

UNIVERSIDADE DE LISBOA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA



UNIVERSIDADE
DE LISBOA



EFEITO DO PERÍODO EM VÁCUO E DO TEMPO DE PRATELEIRA SOBRE A
ESTABILIDADE OXIDATIVA DA CARNE DE BOVINO (*longissimus lumborum*)

JOSÉ FILIPE DA SILVA MOURA MILHEIRO DE CARVALHO

ORIENTADOR:

Doutor Mário Alexandre Gonçalves
Quaresma

COORIENTADOR:

Dr. Pascoal Freitas Costa

UNIVERSIDADE DE LISBOA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA



UNIVERSIDADE
DE LISBOA



EFEITO DO PERÍODO EM VÁCUO E DO TEMPO DE PRATELEIRA SOBRE A
ESTABILIDADE OXIDATIVA DA CARNE DE BOVINO (*longissimus lumborum*)

JOSÉ FILIPE DA SILVA MOURA MILHEIRO DE CARVALHO

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA VETERINÁRIA

JÚRI

PRESIDENTE:

Doutora Marília Catarina Leal Fazeres
Ferreira

ORIENTADOR:

Doutor Mário Alexandre Gonçalves
Quaresma

VOGAIS:

Doutor João de Bettencourt Barcelos
Cota

COORIENTADOR:

Dr. Pascoal Freitas Costa

Doutor Mário Alexandre Gonçalves
Quaresma

À Alexandra Elbakyan

o conhecimento deve ser de acesso livre.

Agradecimentos

Ao Professor Doutor Mário Quaresma, sempre disponível e motivador em todas as fases deste trabalho, alguém que estimo desde o primeiro ano de faculdade e com quem sempre mantive contacto até esta última etapa (inclusivamente alguns divertidos jogos de matraquilhos). Um amigo com quem espero continuar a debater as nossas actividades hortícolas e que foi absolutamente essencial para que eu tenha terminado este trabalho.

Ao Dr. Pascoal Freitas Costa, que me acolheu e orientou no CPC, pela liberdade que me deu para participar e experimentar actividades à margem do meu projeto, pela enorme disponibilidade no apoio ao meu trabalho e na resolução das pequenas situações que foram surgindo, apoio esse que de resto esteve sempre presente em toda a equipa do CPC a quem agradeço na sua pessoa.

Ao Professor Doutor Rui Bessa, pela disponibilidade e paciência com que me recebeu no seu gabinete e dispensou algumas horas das suas tardes para esclarecer dúvidas e auxiliar quanto à melhor forma de trabalhar e analisar os dados recolhidos.

À Professora Doutora Maria Fernanda Pires Ribeiro pela disponibilização das instalações da Escola Superior Agrária de Santarém para a realização da análise colorimétrica e às funcionárias que mesmo ao fim-de-semana se deslocavam à Escola de propósito para esse fim.

Ao Doutor Rogério Mendes do IPMA pela realização graciosa das análises do TBARS.

À Eng. Irene Cristina Antunes por toda a simpatia, amabilidade e disponibilidade que de forma inexcedível demonstrou no apoio a este trabalho.

À Eng. Carla Morgado e à Catarina Henriques, por me receberem, apoiarem e confiarem da forma que o fizeram, por tudo o que me ensinaram, pela disponibilidade e interesse que demonstraram, por me fazerem verdadeiramente sentir parte da equipa.

À minha mãe, por tudo aquilo que nos deu, pelo amor, por estar sempre presente em todos os momentos da minha vida, por não existirem palavras que possam na verdade servir este propósito.

Ao meu pai e à Sónia, por estarem sempre presentes e disponíveis para ajudar no que for preciso, pelo apoio e carinho.

Às minhas irmãs, Sofia e Raquel, pelos bons momentos e muitos disparates.

À Inês, absolutamente fundamental em tudo ao longo destes anos, um qualquer agradecimento nunca seria inferior ao tamanho desta dissertação, pelo apoio incondicional, exploração mundial, por conseguir ter o efeito que mais nada ou ninguém consegue ter, absolutamente essencial para a conclusão desta etapa, para quem isto significa tanto como para mim.

Ao meu primo João Pedro, por ser o verdadeiro amigo de uma vida e que assim continue.

Aos meus tios João e Paizita, que muito ajudaram desde sempre, e cuja importância será maior do que eles eventualmente imaginam.

Aos meus tios Rosário, Luís, Patrícia, Margarida, Miguel e Zé e aos meus primos Mariana, Carlota, Clarinha, Rita, João, Matilde e Madalena, porque a minha família é efetivamente um porto-seguro.

Aos meus grandes amigos não só de faculdade, como de aquém e além-fronteiras Lobo, Gonçalo, João e Lagoa, por todas as aventuras e amizade ininterrupta.

À grupeta que dispensa comentários Maria, Pipa, Quinaz, Prata, Telmo, Joana, Ana, Micá e Neves. E uma menção especial obrigatória ao Ribeirinha que nunca desistiu e esteve sempre disponível para apoiar, motivar e espicaçar.

Aos meus avós, Angélica e Manuel, pela energia contagiante, pelo apoio e positivismo permanentes, pelo exemplo de vida.

Aos meus avós Missú e Zé, que já não assistiram a este momento, mas que foram essenciais na minha formação e cuja marca é indelével e as memórias fortes.

Resumo

A cor da carne é um fator determinante para a selecção no acto de compra por parte do consumidor. A descoloração superficial da carne é uma das principais causas para a sua rejeição, originando a devolução do produto nas grandes superfícies comerciais e impactos financeiros e ambientais assinaláveis. Esta descoloração acontece devido a processos contínuos e complexos de oxidação lipídica e proteica, que se iniciam imediatamente após o abate e são contrabalançados pelo teor de antioxidantes presentes na carne. Os processos de oxidação também provocam alteração das propriedades organoléticas da carne.

Neste estudo, 14 vazias (músculo longissimus lumborum) de bovinos do mesmo lote, que foram submetidas a diferentes tempos de vácuo (8, 12, 16, 20, 24, 28 e 30 dias). Posteriormente ao período de vácuo, as vazias foram fatiadas e os respectivos bifes submetidos a cinco tempos de prateleira (0, 3, 6, 9 e 12 dias), embalados em cuvete e mantidos entre 0 e 4°C. Foram analisados os níveis de α -tocoferol, β -caroteno e malonaldeído, assim como a cor superficial (sistema CIEL*a*b*) de 70 bifes (1 de cada vazia por cada tempo de prateleira).

As amostras submetidas a tempos de prateleira mais curtos apresentaram os valores mais elevados de a^* e b^* , sendo que as amostras submetidas a um tempo de vácuo mais curto apresentaram uma menor redução dos mesmos ao longo do tempo de prateleira. Este tipo de resultados poderá ser de alto valor para a indústria alimentar, por forma a reduzir a probabilidade de rejeição e devolução do produto em loja.

Palavras-chave: carne, cor, *longissimus lumborum*, oxidação, tempo de prateleira.

Abstract

Meat colour is a factor of utmost importance that influences the consumer's decision at the time of purchase. Discolouration of the meat surface is one of the biggest reasons for product rejection by the consumer, leading to stock returns in large retail groups' stores and significant financial and environmental impacts. This discoloration occurs due to continuous complex processes of lipid and protein oxidation, which begin immediately after slaughter and are counterbalanced by the meat's antioxidant content. Oxidation processes also result in the alteration of meat's organoleptic properties.

In this study, 14 sirloins (*longissimus lumborum* muscle) from cattle belonging to the same batch were vacuum packed and stored for 7 different periods (8, 12, 16, 20, 24, 28 and 30 days). After the vacuum period, the sirloins were sliced and the corresponding steaks were packed in cuvettes, kept at a temperature between 0 and 4 °C for 5 different shelf periods (0, 3, 6, 9 and 12 days). The α -tocopherol, β -carotene and malonaldehyde levels, as well as the surface colour (CIE L*a*b* system) of 70 steaks (1 per shelf period per sirloin) were analysed

Samples submitted to shorter shelf periods produced the highest a * and b * values, and samples subjected to a shorter vacuum period showed a lower reduction of those values over the shelf period. Such results may provide information of high benefit to the food industry in order to reduce the likelihood of product return and rejection in store.

Key words: meat, colour, *longissimus lumborum*, oxidation, shelf period.

Índice geral

	Página
Agradecimentos	i
Resumo.....	iv
Abstract.....	v
Índice geral	vi
Índice de figuras.....	viii
Índice de tabelas	ix
Lista de abreviaturas	x
Síntese de atividades no período de estágio.....	1
1 Introdução	2
2 Revisão bibliográfica	5
2.1 Consumo de carne de bovino.....	5
2.2 Qualidade da carne.....	6
2.3 Valor nutricional da carne de bovino	7
2.4 Influência da cor da carne nos comportamentos do consumidor	10
2.5 Estabilidade da carne e valor económico e nutricional	14
2.6 Antioxidantes.....	15
2.6.1 Vitamina C	17
2.6.2 Vitamina E.....	17
2.6.3 β -caroteno.....	18
2.7 Pró-oxidantes.....	19
2.7.1 Teor de ferro	19
2.7.2 Composição das membranas celulares (ácidos gordos poli-insaturados).....	20
2.8 Equilíbrio entre antioxidantes e pró-oxidantes.....	21
2.9 TBA.....	21
2.10 Oxidação lipídica/mioglobina	23
3 Material e Métodos	25
3.1 Caracterização da amostra	25
3.2 Quantificação dos teores de α -tocoferol e β -caroteno	27

3.2.1	Preparação das amostras	27
3.2.2	Análise por Cromatografia líquida de alta performance (HPLC)	27
3.3	Determinação dos valores de malonaldeído (MDA)	27
3.4	Determinação da cor	28
3.5	Tratamento estatístico	29
4	Resultados	30
4.1	α -tocoferol	30
4.2	β -caroteno	32
4.3	MDA	34
4.4	Cor	36
5	Discussão	42
5.1	α -tocoferol	42
5.2	β -caroteno	44
5.3	MDA	44
5.4	Cor	47
6	Conclusão	50
7	Bibliografia	51

Índice de figuras

Figura 1 – Consumo per capita das principais carnes consumidas em Portugal (kg/habitante/ano) (GPP 2017).....	2
Figura 2 – Auto-aprovisionamento em carne das principais espécies consumidas em Portugal (expresso em percentagem das necessidades nacionais) (GPP 2017).....	3
Figura 3 – Consumo mundial das carnes de bovino, suíno e aves entre 1992 e 2011. Adaptado de FAOSTAT (2019).	5
Figura 4 – Estados da mioglobina em peças de carne fresca. (Adaptado de Suman and Joseph 2013).	11
Figura 5 – Bife da vazia (<i>longissimus lumborum</i>) com 12 dias de tempo de vácuo e 0 dias de tempo de prateleira, apresentando forte coloração vermelha (fotografia original).....	40
Figura 6 – Bife da vazia (<i>longissimus lumborum</i>) com 30 dias de tempo de vácuo e 12 dias de tempo de prateleira, apresentando acentuadas manchas de descoloração (fotografia original)	41

Índice de tabelas

Tabela 1 – Esquema de avaliação da carne de acordo com o período de embalagem a vácuo e de acordo com a respectiva validade do vácuo.....	25
Tabela 2 – Bifes utilizados ao longo do estudo, de acordo com o tempo de vácuo e tempo de prateleira.	26
Tabela 3 – Efeito do tempo de vácuo sobre os teores médios de α -tocoferol das vazias (músculo <i>longissimus lumborum</i>) (expresso em $\mu\text{g/g}$ de carne fresca).....	30
Tabela 4 – Efeito do tempo de prateleira em refrigeração sobre os teores de α -tocoferol das vazias (músculo <i>longissimus lumborum</i>) (expresso em $\mu\text{g/g}$ de carne fresca).....	31
Tabela 5 – Efeito combinado do tempo de vácuo e tempo de prateleira sobre os teores de α -tocoferol das vazias (músculo <i>longissimus lumborum</i>) (expresso em $\mu\text{g/g}$ de carne fresca) ..	32
Tabela 6 – Efeito do tempo de vácuo sobre os teores médios de β -caroteno das vazias (músculo <i>longissimus lumborum</i>) (expresso em $\mu\text{g/g}$ de carne fresca).....	33
Tabela 7 – Efeito do tempo de prateleira em refrigeração sobre os teores de β -caroteno das vazias (músculo <i>longissimus lumborum</i>) (expresso em $\mu\text{g/g}$ de carne fresca).....	33
Tabela 8 – Efeito combinado do tempo de vácuo e tempo de prateleira sobre o teor de β -caroteno das vazias (músculo <i>longissimus lumborum</i>) (expresso em $\mu\text{g/g}$ de carne fresca; $p<.0001$).....	34
Tabela 9 – Efeito do tempo de vácuo sobre os teores médios de MDA das vazias (músculo <i>longissimus lumborum</i>) (expresso em mg/kg de carne fresca)	35
Tabela 10 – Efeito do tempo de prateleira em refrigeração sobre os teores de MDA das vazias (músculo <i>longissimus lumborum</i>) (expresso em mg/kg de carne fresca)	35
Tabela 11 – Efeito combinado do tempo de vácuo e tempo de prateleira sobre o teor de MDA das vazias (músculo <i>longissimus lumborum</i>) (expresso em mg/kg de carne fresca) ...	36
Tabela 12 – Efeito do tempo de vácuo na luminosidade (L^*), intensidade de vermelho (a^*) e intensidade de amarelo (b^*) das vazias (músculo <i>longissimus lumborum</i>)	37
Tabela 13 – Efeito do tempo de prateleira sobre a luminosidade (L^*), intensidade de vermelho (a^*) e intensidade de amarelo (b^*) das vazias (músculo <i>longissimus lumborum</i>) ..	38
Tabela 14 – Efeito combinado do tempo de vácuo e prateleira sobre a luminosidade (L^*) das vazias (músculo <i>longissimus lumborum</i>), ($p<.0001$)	38
Tabela 15 – Efeito combinado do tempo de vácuo e prateleira sobre a intensidade de vermelho (a^*) das vazias (músculo <i>longissimus lumborum</i>), ($p<.0001$)	39
Tabela 16 – Efeito combinado do tempo de vácuo e prateleira sobre a intensidade de amarelo (b^*) das vazias (músculo <i>longissimus lumborum</i>), ($p<.0001$)	40

Lista de abreviaturas

a*	Intensidade de vermelho (sistema CIE L*a*b*)
ADH	Antioxidantes doadores de hidrogénio
b*	Intensidade de amarelo (sistema CIE L*a*b*)
CIE	<i>Commission Internationale de L'Eclairge</i>
cm	Centímetro
CPC	Centro de Processamento de Carnes da SONAE
DDR	Dose Diária Recomendada
ESAS	Escola Superior Agrária de Santarém
FAO	Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura
FAOSTAT	Divisão de Estatística da Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura
g	Grama
GPP	Gabinete de Planeamento, Políticas e Administração Geral (Ministério da Agricultura, Florestas, Desenvolvimento Rural e do Mar)
HPLC	Cromatografia líquida de alta performance
INE	Instituto Nacional de Estatística
INSA	Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge
kg	Quilograma
l	Litro
L*	Luminosidade (sistema CIE L*a*b*)
LL	Músculo <i>longissimus lumborum</i>
m	Metro
MDA	Malonaldeído
mg	Miligrama
min	Minuto
ml	Mililitro
mm	Milímetro
mM	Milimole
OMS	Organização Mundial de Saúde
PDCAAS	Protein Digestibility-Corrected Amino Acid Score
PUFA	Ácidos Gordos Poli-insaturados
rpm	Rotações Por Minuto
SFA	Ácidos Gordos Saturados
TBA	Ácido Tiobarbitúrico
TBARS	Espécies Reactivas ao Ácido Tiobarbitúrico

TCA	Ácido Tricloroacético
TEP	Tetraetoxipropano
UV	Ultra-violeta
°C	Graus Celsius
µg	Micrograma
µm	Micrómetro

Síntese de atividades no período de estágio

Entre Fevereiro e Julho de 2014 realizei o estágio no Centro de Processamento de Carnes da SONAE (CPC) em Santarém. Fiquei colocado no laboratório de análises de higiene e segurança alimentar. Durante a minha permanência participei sempre no normal dia-a-dia de trabalho de forma a adquirir um entendimento alargado do funcionamento de um centro desta envergadura.

Este laboratório é responsável pela análise e gestão de amostras de produtos alimentares produzidos no CPC, controlo da higiene dos colaboradores, fornecimento de água e todos os sistemas utilizados nas instalações desde secadores de mãos até às máquinas utilizadas nas linhas de produção, embalagens, etc. O mesmo tipo de amostras é enviado desde dois outros centros (panificação e distribuição de peixe) para serem analisadas neste laboratório. É, portanto, o laboratório central para estas três instalações. Certo tipo de análises é feito por um fornecedor externo, como é o caso da análise da água ou da presença de substâncias tóxicas nas amostras alimentares, por exemplo.

Outra vertente do laboratório é a participação em experiências de desenvolvimento e investigação. Ou seja, qualquer alteração de processo, novo produto, novo método de produção, qualquer que seja a mudança ou possibilidade de mudança é investigada e testada. Foi muito interessante verificar como se processa o desenho das experiências, participar na sua execução e inclusivamente na vertente gastronómica de algumas delas (não confundir com painel sensorial).

Foi durante o meu período de estágio que realizei o trabalho prático que deu origem a esta dissertação de mestrado. Todas as tarefas, desde a selecção das peças de vazia, armazenamento, fatiamento, embalamento e o procedimento de recolha e análise das amostras até serem congeladas para posterior análise bioquímica, foram efectuadas por mim ou sempre na minha presença (operação da linha de produção). Todos os sectores do CPC foram inexcedíveis no apoio e disponibilidade que demonstraram durante a realização deste trabalho, na comunicação de informação e encaixe das necessidades deste projeto no planeamento de produção diário.

Para mim foi um prazer trabalhar com toda a equipa e classificaria esta experiência como nada menos que um sucesso.

Após a conclusão do trabalho prático tive a possibilidade de acompanhar o trabalho realizado no Centro de Distribuição de Peixe da SONAE, também em Santarém, oportunidade que sem dúvida enriqueceu o meu período de estágio e pela qual muito agradeço visto ter sido um pedido meu amavelmente atendido.

1 Introdução

Em Portugal, o consumo de carne de bovino em 2018 foi estimado em 18,2 kg/habitante/ano, sendo a terceira carne mais consumida, depois da carne de porco e de animais de capoeira, associadas a um consumo per capita de 43,9 e 41,2 kg/habitante/ano (Figura 1), respectivamente (INE 2019b).

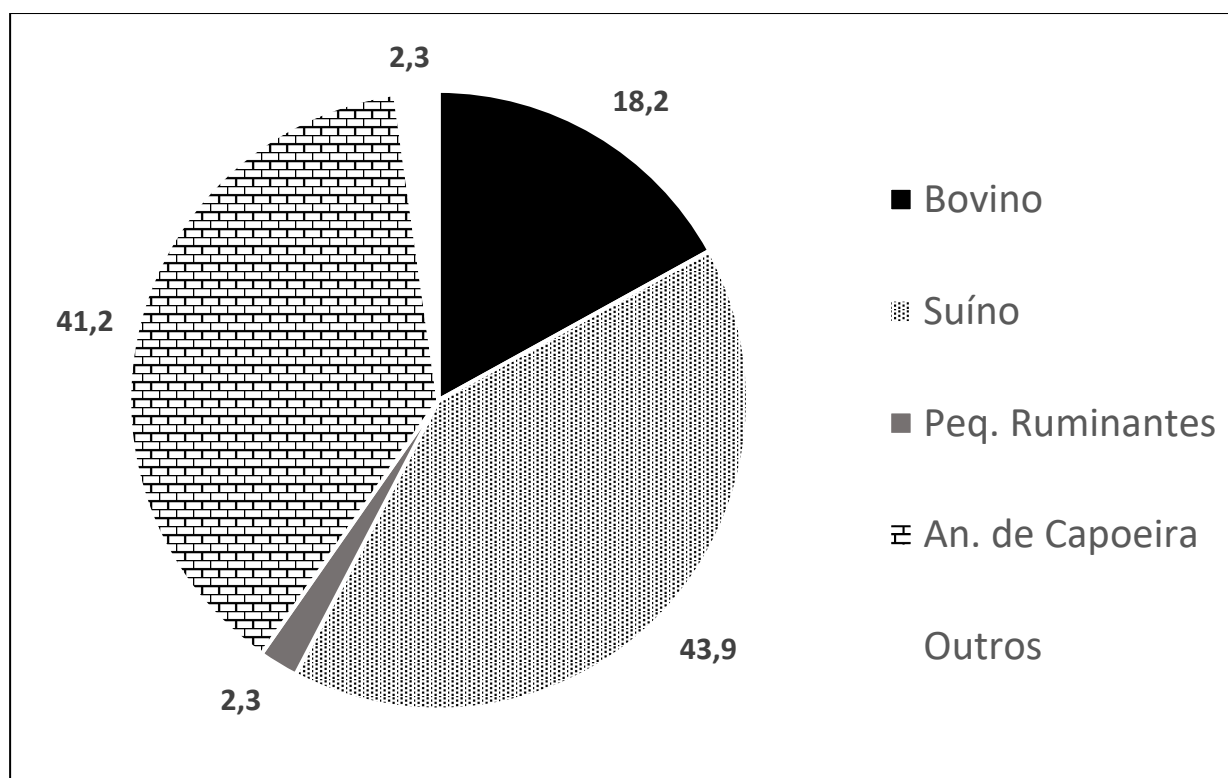


Figura 1 – Consumo per capita das principais carnes consumidas em Portugal (kg/habitante/ano) (INE 2019b)

Contudo, o consumo de carne de bovino é superior à capacidade produtiva do país. O grau de auto-aprovisionamento da carne de bovino é o mais baixo de todas as variedades de carne consumidas em Portugal (Figura 2), tendo sido estimado para o ano de 2016 em 56,9%. A produção nacional de carne de bovino foi, em 2016, estimada em 90 568 toneladas, que resultou do abate de 377 118 animais (GPP 2017).

Para fazer face às necessidades nacionais, em 2016 foram importadas 83 660 toneladas de carne de bovino refrigerada e 12 061 toneladas de carne de bovino congelada, a que correspondeu uma despesa de 431 286 000 € (GPP 2017).

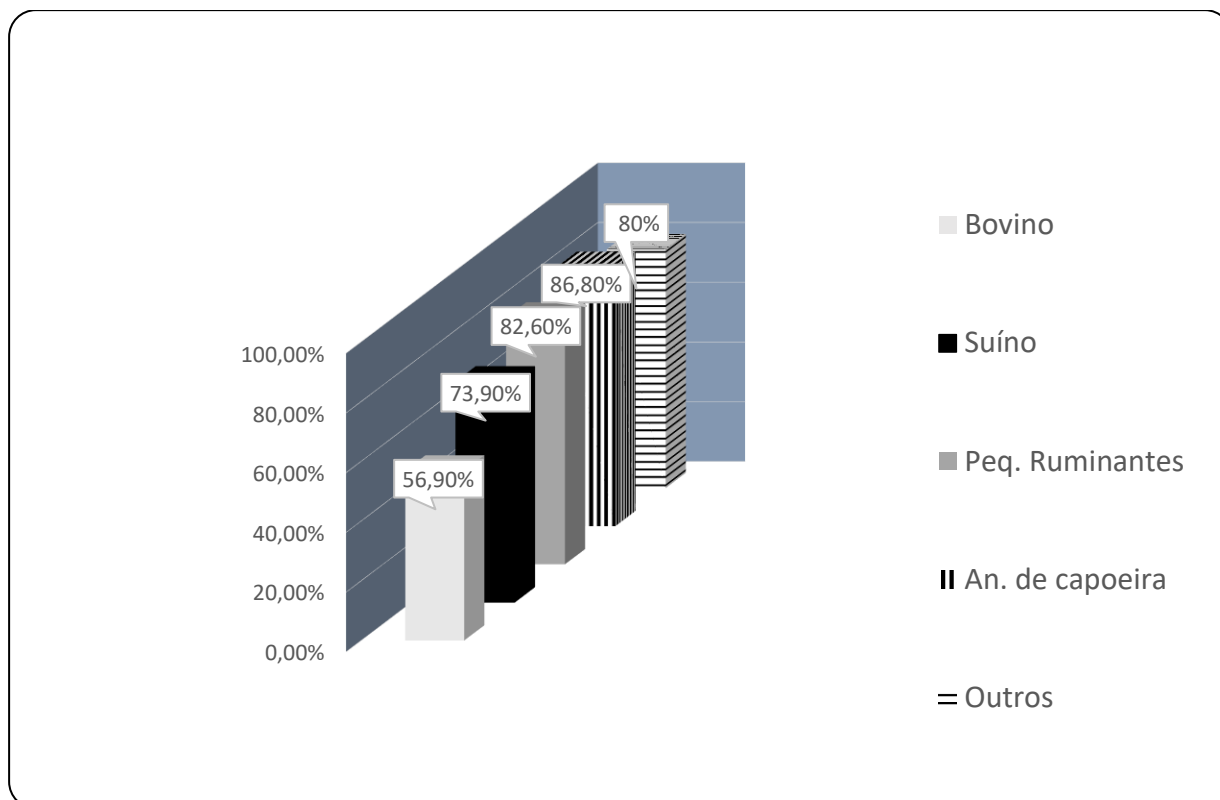


Figura 2 – Auto-provisionamento em carne das principais espécies consumidas em Portugal (expresso em percentagem das necessidades nacionais) (GPP 2017)

A carne de bovino é transaccionada principalmente de três formas: peças de talho nobres (lombo, vazia, alcatra) embaladas a vácuo e refrigeradas ou congeladas; quartos (dianteiro e traseiro) embalados individualmente a vácuo e refrigerados, e carcaças inteiras refrigeradas. Sendo o preço um fator determinante relativamente à importação de carne em termos nacionais (Monteiro 2012), a compra de carcaças inteiras refrigeradas assume uma elevada importância como forma de fornecer o mercado doméstico a preços razoáveis e com estabilidade. Posto isto, a proximidade torna-se um aspecto primordial para esta actividade, sendo a importação de carcaças de bovino refrigeradas realizada exclusivamente a partir da Europa. Segundo os dados oficiais publicados pelo GPP (2014), os principais mercados exportadores para Portugal são a Espanha e a Holanda, contribuindo respectivamente com 65,8% e 15,3% do total de carne de bovino importada.

No entanto, a qualidade destas carcaças é variável, não permitindo aos importadores tomar decisões com base na mesma. Esta variabilidade intrínseca influencia os processos de oxidação proteica e lipídica aos quais a carne vermelha está sujeita, que acabam por conduzir a uma deterioração significativa da sua qualidade sensorial e nutricional (Wood et al. 2008). Maximizar a estabilidade oxidativa é um objectivo de grande importância para a indústria, uma vez que as distâncias entre os locais de produção alimentar e os de consumo

continuam a aumentar (Faustman et al. 2010) e os interesses na qualidade da carne são guiados pela necessidade de fornecer ao consumidor um produto consistente de alta qualidade e a um preço acessível (Sepúlveda et al. 2008).

Com estes factores em mente, este estudo foi delineado por forma a pesquisar possíveis relações entre a estabilidade oxidativa dos bifes da vazia e a evolução da cor da carne.

2 Revisão bibliográfica

2.1 Consumo de carne de bovino

A nível mundial o consumo total de carne tem vindo sempre a aumentar a um ritmo elevado. De acordo com os dados publicados pela Divisão de Estatística da Organização das Nações Unidas para a Agricultura e Alimentação (FAOSTAT 2019), entre 1992 e 2011 o aumento foi de praticamente 60%, situando-se o consumo total no ano de 2011 em 290,1 milhões de toneladas. Como é possível ver na Figura 3, durante este período de vinte anos foi ocorrendo uma alteração nos hábitos de consumo que levou a que a carne de aves de capoeira passasse a ser a segunda mais consumida, ultrapassando a carne de bovino desde 1997. Esta trajectória de crescimento da carne de aves de capoeira manteve-se, estando os valores cada vez mais próximos dos do consumo de carne de suíno. Se se conservar esta tendência de subida, dentro de alguns anos poderá vir a ser a carne mais consumida a nível mundial. Pelo contrário, os níveis de consumo de carne de bovino estabilizaram neste período, apresentando um grau de crescimento reduzido em comparação com os da carne de suíno e, principalmente, com a carne de aves.

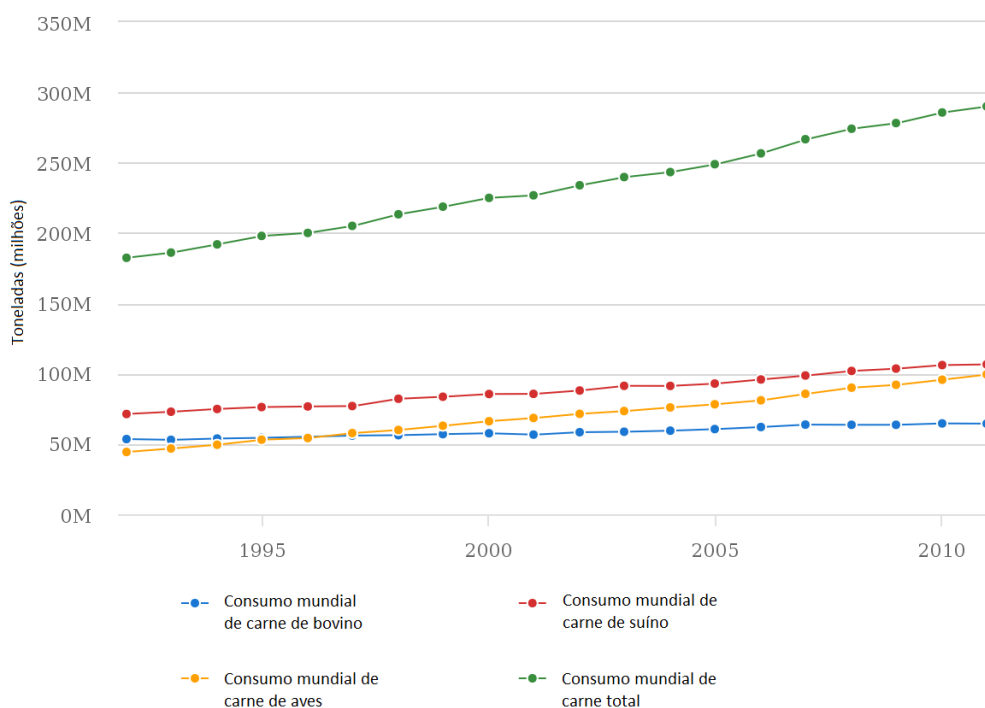


Figura 3 – Consumo mundial das carnes de bovino, suíno e aves entre 1992 e 2011. Adaptado de FAOSTAT (2019).

Em Portugal, os dados reunidos pelo Instituto Nacional de Estatística (INE 2019a, 2019b) referentes ao período de 1992 a 2018 atestam uma realidade ligeiramente diferente, apesar de também se verificar um aumento gradual do consumo total de carne, passando de um consumo de 80,4 kg/ano *per capita* em 1992 para um valor máximo de 113,7 kg/ano *per capita* em 2009. A partir de 2011 houve uma ligeira redução anual do consumo total de carne e uma estabilização do consumo de 2014 em diante. O valor máximo atingido em 2009 só foi ultrapassado em 2018, ano em que se verificou um consumo de 117,4 kg/ano *per capita*. A carne de animais de capoeira (carne de coelho incluída) é a principal carne consumida pela população Portuguesa no período em análise, o seu consumo mantém uma tendência constante ao longo do período, sem flutuações negativas. Por outro lado, o consumo de carne de suíno e de bovino sofreu flutuações de consumo similares às anteriormente descritas para o consumo total de carne.

A indústria da carne de bovino é, assim, de elevada importância, pois tanto a nível nacional como europeu e mundial este tipo de carne é o terceiro mais consumido. Não é possível apontar uma só razão para este abrandamento ou queda de consumo quando comparado com a carne de suíno e de aves. O preço por kg poderá ser um dos factores (GPP 2014, 2017). A atual preferência que começa a ser perceptível na sociedade pelas denominadas carnes brancas (consideradas mais saudáveis) em detrimento das vermelhas poderá também de alguma forma contribuir para a situação verificada na Europa (Monteiro 2012).

2.2 Qualidade da carne

A definição de qualidade tem um significado variável que lhe é atribuído consoante quem a avalia (Becker 2000). Os produtores primários e as indústrias de transformação observam a qualidade de um produto com base em indicadores técnicos. Por outro lado, os consumidores fazem uso de pistas ou sinais recolhidos na inspeção que realizam e da própria experimentação do produto para poderem determinar, a partir dos seus atributos, a sua qualidade (Becker 2000; Sepúlveda et al. 2008). Segundo Becker (2000), os atributos de qualidade da carne podem ser divididos em intrínsecos e extrínsecos e colocados em três categorias diferentes.

Nos atributos intrínsecos incluem-se a cor, a gordura visível e o marmoreado da peça, enquanto nos atributos extrínsecos encontramos o preço, o país de origem ou a marca. Nas 3 categorias de Becker (2000), encontramos: 1) os atributos que determinam a selecção do produto no acto de compra (como por exemplo, a cor, a gordura visível ou o

marmoreado da peça); 2) atributos experienciáveis, que são avaliáveis no momento da utilização e consumo da peça (são exemplo desses atributos a cor, a textura, a gordura visível, a tenrura, o cheiro, o *flavour* ou a suculência); e 3) uma última categoria, onde se inserem os atributos de qualidade que, sendo do interesse do consumidor, não podem ser inferidos durante o processo de selecção, nem após o consumo da carne. São atributos de credibilidade, isto é, o consumidor só os pode avaliar com base no crédito que é dado à empresa ou, por exemplo, à informação que é divulgada sobre a raça do animal que deu origem à carne, às práticas de manejo, e à proveniência de uma determinada zona geográfica.

No entanto, verifica-se que o que mais influencia o consumidor a repetir o acto de compra da carne de bovino é a sua qualidade organoléptica – os atributos sensoriais presentes na segunda categoria apresentada – (Monteiro 2012), sendo que, relativamente à compra de carne com rótulo de qualidade por comparação à indiferenciada, o nível de rendimento do consumidor e o preço a que é vendida são factores importantes (Sepúlveda et al. 2008).

2.3 Valor nutricional da carne de bovino

A carne de bovino é uma fonte relevante de proteína de elevado valor biológico, pois contém todos os aminoácidos essenciais à dieta humana e apresenta elevada biodisponibilidade. É também uma importante fonte de minerais como o ferro, o magnésio, o fósforo, o potássio, o zinco e o selénio. Conjuntamente, apresenta quantidades consideráveis de várias vitaminas hidrossolúveis como a Tiamina (B1), Riboflavina (B2), Niacina (B3), Ácido Pantoténico (B5), Piridoxina (B6), Ácido Fólico (B9) e a Cobalamina (B12). Para além disto, é também uma fonte de gordura, sendo o seu teor e a sua composição dependentes de vários factores, como o manejo alimentar dos animais, condição corporal dos animais no momento do abate, peça de talho e limpeza realizada pelo talhante (Pereira and Vicente 2013).

A carne de bovino, tal como a de outras espécies, apresenta dois tipos de fração adiposa: 1) depósito de tecido adiposo que representa uma reserva energética para o animal e que é predominantemente constituído por triacilgliceróis (também conhecida como fração neutra); e 2) bicamada fosfolipídica, moléculas que constituem elementos estruturais das células, como os fosfolípidos presentes nas membranas celulares e sub-celulares (conhecida por fração polar). Os fosfolípidos têm um maior conteúdo de ácidos gordos poli-insaturados (PUFA), que são essenciais para a realização da sua função estrutural. Por

outro lado, os triacilgliceróis são predominantemente compostos por ácidos gordos saturados (SFA) (Daley et al. 2010; De Smet et al. 2004).

Durante o período de acabamento (vulgarmente conhecido por engorda), ocorre um acentuado aumento da deposição de triacilgliceróis e por consequência uma diminuição proporcional no teor de fosfolípidos, o que contribui para o aumento dos SFA e uma diminuição de PUFA (Wood et al. 2008). Assim sendo, existe potencialmente uma relação inversa entre o valor nutricional e a qualidade sensorial da carne, visto que as características sensoriais desejáveis tendem a estar ligadas ao aumento da gordura intramuscular (Wood et al. 2008). Em termos nutricionais, triacilgliceróis e fosfolípidos contribuem com ácidos gordos para a dieta. O perfil de ácidos gordos presente na carne depende da espécie, da dieta e da relação entre triacilgliceróis e fosfolípidos, sendo que diferentes composições de ácidos gordos no tecido adiposo e no músculo afectam grandemente a qualidade da carne, pois influenciam a firmeza/oleosidade do tecido adiposo e a estabilidade oxidativa do músculo, que por sua vez afecta o *flavour* e a cor da carne (Wood et al. 2008). Uma peça de talho com reduzidos depósitos de gordura proveniente de um animal alimentado no pasto apresenta uma considerável percentagem de ácidos gordos poli-insaturados e é mais rica em precursores das vitaminas A e E, relativamente a animais alimentados com concentrado (alimento desidratado vulgarmente conhecido como “ração”); sendo por isso uma opção a considerar pelo consumidor interessado em reduzir o consumo de gordura, visto ter uma menor percentagem global de gordura (Daley et al. 2010). Além do mais, fornece uma variedade de antioxidantes endógenos e outras substâncias bioactivas, entre as quais taurina, carnitina, carnosina, ubiquinona, glutatona e creatina (Williams 2007).

O método eleito pela Organização das Nações Unidas para a Agricultura e Alimentação (FAO) e pela Organização Mundial de Saúde (OMS) para a medição do valor nutritivo da proteína na nutrição humana é o PDCAAS (*protein digestibility-corrected amino acid score*), traduzido livremente como classificação de aminoácidos corrigida pela digestibilidade proteica (Bhutta 2013). Segundo o mesmo autor, os alimentos de origem animal como o leite e seus derivados, ovos, carnes vermelhas, carne de aves ou peixe, são usados como referência para a comparação da qualidade da proteína. O fundamento é que a sua composição em aminoácidos é notável, atingindo um score de 100%, – isto é, como revela Williams (2007), estas proteínas fornecem todos os oito aminoácidos essenciais à dieta humana (fenilalanina, isoleucina, leucina, lisina, metionina, treonina, triptofano e valina), não estando nenhum em quantidades limitantes – e a digestibilidade real da proteína é elevada, que nestes alimentos se situará normalmente entre 95 e 98%.

Uma peça de carne crua de bovino (vaca ou vitela) contém em média 21-22g de proteína por cada 100g de carne, segundo a Tabela da Composição de Alimentos produzida

pelo Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge (INSA 2019). Ainda segundo estes dados, o teor de proteína na carne pode subir até valores entre 28-34g/100g após ser cozinhada. Como explica Bhutta (2013), isto acontece como resultado da diminuição da quantidade de água presente na carne, aumentando a concentração relativa dos nutrientes. Esta proteína tem então uma elevada digestibilidade (cerca de 0,94) – assumindo que o método utilizado para cozinhar a carne não é promotor da Reação de Maillard (reação entre o grupo carbonilo (C=O) de um carboidrato e o grupo amina (–NH₂) de um aminoácido ou proteína dando origem a melanoidinas) com a consequente redução da biodisponibilidade da proteína – quando comparado, por exemplo, com o feijão (0,78) ou o trigo integral (0,86). Além do mais, com a notável excepção da soja, os vegetais têm sempre carência de, pelo menos, um aminoácido essencial (Vieira et al. 1999; Messina 2010). Comparativamente, Pereira e Vicente (2013) indicam que a classificação PDCAAS máxima é atribuída à ovalbumina presente na clara de ovo e à caseína do leite com o valor de 1, a carne obtém 0,92 e o feijão, lentilhas, ervilhas e grão-de-bico (comummente considerados nas dietas vegetarianas como importantes fontes de proteínas) valores entre 0,57 e 0,71. Já o glúten de trigo obtém um valor de 0,25.

Ao longo dos anos, o teor de gordura presente na carne e consumida tem sofrido uma redução drástica. Como indicado por Higgs (2000), no passado era usual que a maioria da gordura visível (gordura subcutânea) fosse consumida juntamente com a carne. Além disso, a indústria foi alterando os seus métodos de produção, reflectindo-se numa pecuária mais eficiente em termos de aproveitamento energético, favorecendo a diminuição da gordura na carne. São quatro os factores apontados pelo autor como responsáveis por esta redução da gordura: 1) reprodução selectiva; 2) práticas de alimentação projectadas para diminuir a proporção de gordura da carcaça; 3) sistemas oficiais de classificação de carcaças que favorecem a magreza das mesmas (sistema EUROP nos suínos); e 4) técnicas modernas de preparação da carne que permitem a separação completa dos músculos e a extracção de toda a gordura intermuscular. Segundo um estudo de Gerber et al. (2009), a remoção do tecido adiposo visível reduz o conteúdo de gordura na carne entre 23,8 e 59,1%. Com a generalização da utilização de peças e cortes magros, este tipo de produtos é o maioritariamente disponível e a sua análise nutricional revela que têm baixa percentagem de gordura (inferior a 7%) e conteúdo em colesterol moderado (Williams 2007). Segundo os dados do INSA (2019), a grande maioria das peças de talho de bovino apresenta, antes da confecção, valores de gordura inferiores a 7,6%, sendo que o lombo (*psoas maior*) e a vazia (*longissimus lumborum*) – as peças mais magras da carcaça de bovino – apresentam em média 3,3%. Desta forma podem ser consideradas peças de carne magra, classificação que pode ser atribuída a todas as peças que apresentem um teor de gordura inferior a 10% (<10 g de gordura / 100 g de carne) (Van Wezemael et al. 2014).

Assim como o teor de gordura na carne tem vindo a reduzir, também a sua composição em ácidos gordos tem vindo a alterar-se. Actualmente, a percentagem de ácidos gordos saturados na carne de bovino tende a ser inferior a 50% (Higgs 2000). Adicionalmente, alguns trabalhos demonstraram que a carne, ao ser cozinhada, perde quantidades consideráveis da gordura total (entre 17,9 e 44,4%), o que leva também a uma diminuição da quantidade total e a uma alteração da proporção de ácidos gordos, conduzindo a um aumento significativo do rácio de PUFA/SFA (Gerber et al. 2009). A explicação para tal facto, já detectado anteriormente por Ono et al. (1985), reside na função estrutural dos ácidos gordos insaturados, principalmente os polinsaturados, uma vez que os mesmos são constituintes da membrana celular, pelo que são menos afectados pelos processos de confecção da carne.

Por oposição, o processo de cozedura da carne leva à diminuição dos valores de cálcio, sódio, potássio, magnésio e fósforo. Contudo, na carne de bovino verifica-se um aumento dos níveis de ferro e zinco (Gerber et al. 2009). De acordo com o mesmo autor, todas as vitaminas diminuem o seu valor, sendo que a vitamina B1 é a que demonstra as maiores perdas, as quais podem atingir mesmo os 100%. Estas conclusões vão ao encontro dos resultados publicados por Ono et al. em 1985, que foram bastante semelhantes.

Igualmente relevante é destacar que 100g de carne magra de bovino fornecem mais de 10% da dose diária recomendada (DDR) de vitamina B2, vitamina B5 e selénio e mais de 25% da DDR de proteína, fósforo, zinco, ferro e vitaminas B3 e B6 (Williams 2007). Segundo Pereira e Vicente (2013), os níveis de vitamina B12 atingem praticamente dois terços da DDR. Em Portugal (INSA 2019), a porção unitária recomendada de carne de bovino é de 30g se avaliada crua e de 25g cozinhada.

2.4 Influência da cor da carne nos comportamentos do consumidor

É costume dizer-se que “os olhos também comem”. Este ditado popular também se pode aplicar à qualidade dos alimentos, mais especificamente ao momento da selecção e compra da carne de bovino por parte do consumidor. Será interessante salientar que, segundo Issanchou (1996), a qualidade na óptica do consumidor não é um valor absoluto, mas sim relativo, na medida em que a avaliação é sempre feita em comparação com os outros produtos, pelo que devemos antes falar em percepção de qualidade. De acordo com vários autores, a influência da cor da carne na aceitação de carnes vermelhas pelo consumidor está bem estabelecida, sendo utilizada como indicador de frescura (Jeremiah et al. 1972; Issanchou 1996; Carpenter et al. 2001).

Considera-se carne vermelha o tecido muscular de espécies de mamíferos após o abate, sendo que o teor de vermelho está positivamente correlacionado com o teor de mioglobina – proteína sarcoplasmática que é a principal responsável pela cor da carne – e cujo teor depende da espécie, da idade do animal que originou a peça de carne e do músculo (Faustman et al. 2010). A mioglobina é uma proteína hidrossolúvel constituída por 8 α -hélices que envolvem um núcleo heme central que contém um átomo de ferro, capaz de formar seis ligações (Mancini and Hunt 2005). O tipo de ligação presente e a valência do ferro determinam então a cor do músculo (Mancini and Hunt 2005). A principal função da mioglobina consiste em transportar moléculas diatómicas de oxigénio para a mitocôndria e, por este motivo, é criada pelo organismo em resposta às necessidades da mitocôndria relativamente a este elemento (Mancini and Hunt 2005). Na Figura 4 é representada a variação da cor da carne consoante a valência do ferro e os estados da mioglobina.

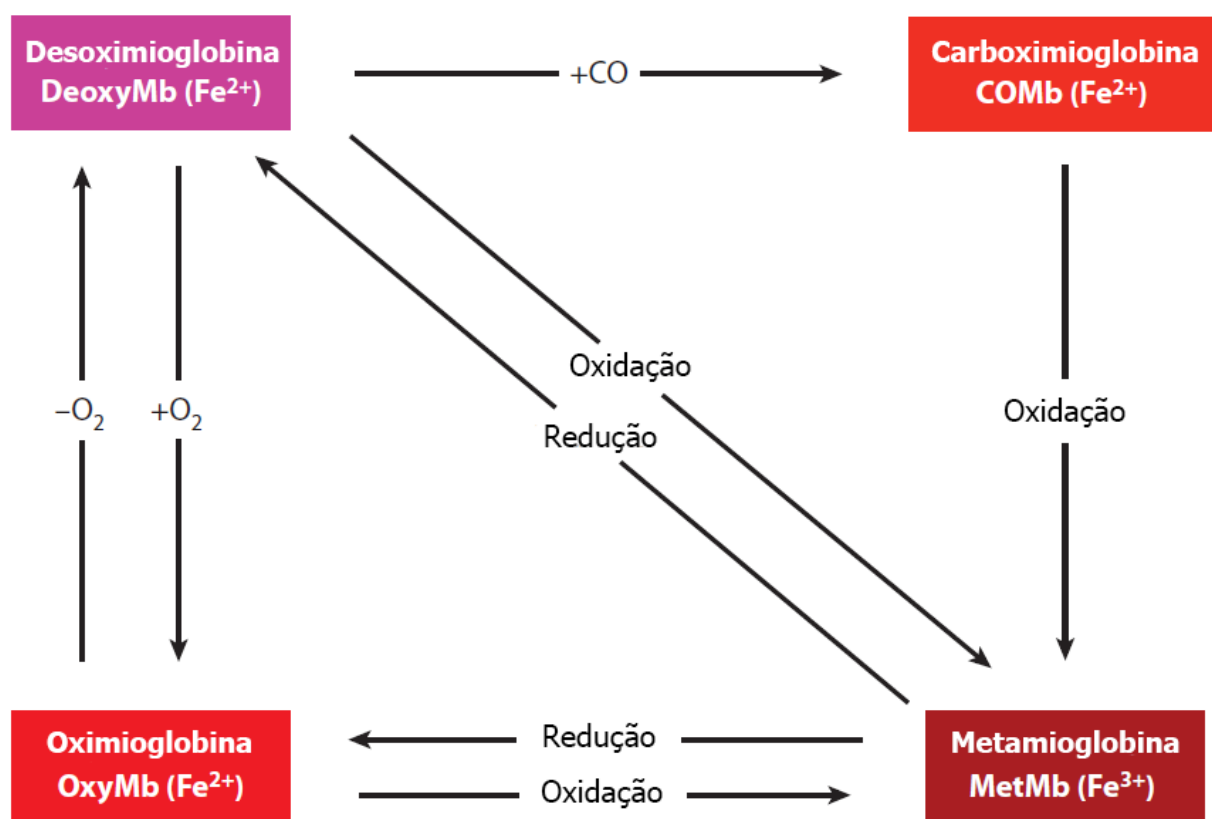


Figura 4 – Estados da mioglobina em peças de carne fresca. (Adaptado de Suman and Joseph 2013).

Mancini e Hunt (2005) descrevem os estados da mioglobina no seu artigo de revisão bibliográfica sobre a cor da carne. De acordo com estes autores, a cor vermelha-arroxeadada

ou rosa-arroxeadas, habitualmente relacionada com músculo acabado de cortar e a produtos embalados a vácuo, surge quando a mioglobina se encontra no estado de desoximioglobina. Para manter a mioglobina num estado desoxigenado é necessária uma tensão de oxigénio bastante baixa ($<1,4$ mm Hg), sendo que a desoximioglobina ocorre quando não existe nenhum elemento ligado no sexto local do núcleo heme, colocando-o assim no estado ferroso (Fe^{2+}). A cor vermelho-cereja está associada ao estado de oximioglobina, que ocorre quando o sexto local de ligação é ocupado por oxigénio diatómico proveniente da atmosfera, não ocorrendo alteração na valência do átomo de ferro que se mantém ferroso (Fe^{2+}). À medida que a exposição ao oxigénio aumenta, a oximioglobina penetra mais profundamente no tecido muscular que compõe a carne. A profundidade da penetração do oxigénio e a espessura da camada de oximioglobina dependem da temperatura, pressão parcial de oxigénio, pH e competição por oxigénio com outros processos respiratórios. Tanto a desoximioglobina como a oximioglobina vão originar a formação de metamioglobina com a oxidação do ferro ferroso a ferro férrico (Fe^{2+} passa a Fe^{3+}), levando à formação de uma cor vermelho-acastanhada que provoca alteração da cor da carne a qual é percebida pelo consumidor como uma característica negativa na avaliação sensorial da carne. A formação de metamioglobina depende de vários factores, entre os quais se destacam a pressão parcial de oxigénio, a temperatura, o pH e, nalguns casos, o crescimento microbiológico (Mancini and Hunt 2005). A redução de metamioglobina é crucial para a estabilidade da cor na carne, dependendo de enzimas e sistemas redutores cuja acção infelizmente está muito limitada no músculo *post mortem*. A carboximioglobina é um estado químico importante da mioglobina devido ao interesse actual no embalamento em atmosferas com níveis baixos de monóxido de carbono.

Fisiologicamente, segundo Faustman et al. (2010), as miofibras constituintes dos músculos podem classificar-se como lentas, rápidas ou intermédias; e em termos bioquímicos como oxidativas, glicolíticas ou oxidativas/glicolíticas. As miofibras lentas (oxidativas) têm um maior teor de gordura, velocidades de contracção mais lentas, metabolismo oxidativo e, de forma correspondente, maior concentração de mioglobina e mitocôndrias. As miofibras rápidas (glicolíticas), como o nome indica, têm menor teor de gordura e maior de glicogénio, baseando-se num metabolismo anaeróbio com menor teor de mioglobina e mitocôndrias, alcançando uma rápida velocidade de contracção. Já as miofibras oxidativas/glicolíticas são compostas por elementos intermédios às fibras de contracção lenta e rápida. Assim se compreende a variação significativa dos tons de vermelho nos diferentes músculos de um mesmo animal, sendo de aparência mais vermelha os músculos que contêm uma maior proporção de miofibras oxidativas (com maior concentração de mioglobina) relativamente às glicolíticas.

No que respeita à carne de bovino, vários estudos indicam a cor, a gordura visível, o preço, o tipo de embalagem e o corte como sendo os principais factores utilizados pelos consumidores no momento da compra (Issanchou 1996; Carpenter et al. 2001; Robbins et al. 2003). Carpenter (2001) concluiu que existe uma correlação entre a aparência da carne e a probabilidade de esta ser comprada, havendo uma clara preferência pelo vermelho vivo. Todavia, nem a cor nem a embalagem influenciaram a satisfação durante o consumo, o que também está de acordo com os dados anteriores de Jeremiah et al. (1972). Significa isto que, após a decisão de compra ter sido tomada, a satisfação durante a preparação e o consumo da carne dependerá principalmente dos seus atributos de tenrura, suculência e *flavour*, o que também foi confirmado por Robbins et al. (2003). Ainda no estudo de Carpenter et al. (2001), o valor de 30 a 40% de metamioglobina, no total de pigmentos da superfície da carne é apresentado como sendo o valor a partir do qual os consumidores tomarão uma decisão de não aquisição. Resultados semelhantes foram obtidos por Hood e Riordan (1973), onde além da recusa de aquisição quando os valores de metamioglobina se aproximam dos 40%, foi detectada uma discriminação apreciável relativamente aos bifes descolorados mesmo com níveis baixos de metamioglobina; sendo que foi encontrada uma relação linear entre o aumento da metamioglobina e a diminuição do número de vendas totais.

A importância da cor que a carne apresenta é ainda mais realçada quando se tem em conta dados que indicam que uma grande percentagem (36,7%) das compras realizadas nos mostradores self-service são feitas por impulso (Jeremiah et al. 1972), sendo a aparência atrativa o principal fator motivador. Num outro estudo envolvendo consumidores de seis países europeus (Glitsch 2000), a cor foi considerada o atributo de qualidade intrínseco mais importante, tendo também sido apreciada como uma das características globais mais úteis em todos os países (Irlanda, Itália, Espanha, Suécia e Reino Unido) à excepção da Alemanha, onde claramente eram valorizados os atributos extrínsecos país de origem e local de compra e apenas numa segunda linha a cor. Ainda neste estudo, no respeitante às preocupações de segurança no consumo da carne, foi considerado óbvio que a frescura tem um papel determinante como seu indicador; no entanto, não foi avaliada a forma como os consumidores determinam a frescura da carne – ao contrário dos estudos referidos anteriormente que referem a cor como um dos factores, ou até mesmo o fator mais importante para a sua determinação (Issanchou 1996; Carpenter et al. 2001; Robbins et al. 2003).

2.5 Estabilidade da carne e valor económico e nutricional

A carne vermelha é um alimento de valor nutricional elevado e, como tal, susceptível à oxidação lipídica e proteica. Como resultado destes processos, poderá ocorrer uma deterioração significativa da qualidade da carne. Hoje em dia, fruto do contínuo aumento das distâncias entre os locais de produção alimentar e os de consumo, inovações na área do processamento e embalagem da carne são e continuarão a ser necessárias de forma a maximizar a sua estabilidade (Faustman et al. 2010). A importância de manter a estabilidade da carne vem do objectivo por parte da indústria de obter o maior tempo de prateleira possível, comumente designado por prazo de validade (Giménez et al. 2012). O tempo de prateleira pode ser definido como o período desde a produção e embalagem de um produto, durante o qual este pode ser armazenado sob condições ambientais definidas, e o ponto a partir do qual passa a ser considerado um género alimentício avariado, quando o mesmo não pode ser aceite para consumo por não se encontrar nas condições sensoriais, nutricionais, funcionais ou de segurança desejáveis (Ellis 1994). A indústria alimentar europeia, e a da carne em particular, acaba por ter de corresponder a necessidades, exigências e expectativas do consumidor que são ambivalentes e desafiantes. Existe a procura por produtos de elevada qualidade sensorial e propriedades nutricionais e funcionais melhoradas com a garantia de segurança para o consumidor, um tempo de prateleira prolongado e maior conveniência de preparação e consumo. Ao mesmo tempo, é pedida uma imagem de produção mais tradicional e saudável, com menos aditivos e menos intervenções tecnológicas e processamento (Nychas et al. 2008).

Ainda segundo Giménez et al. (2012), a capacidade de estimar o tempo de prateleira tem cada vez mais importância, dados os desenvolvimentos tecnológicos dos últimos anos e o aumento do interesse por parte do consumidor na alimentação com produtos frescos, seguros e de elevada qualidade. De acordo com Nicoli (2012), todos os produtos alimentares estão condenados a tornar-se géneros alimentícios avariados após um certo tempo de armazenamento, visto que a qualidade do alimento é um estado dinâmico de um conjunto de variáveis que se move continuamente para níveis reduzidos; isto é, à medida que o tempo passa a qualidade do produto irá sempre diminuir até atingir o limite de aceitabilidade, o qual sendo ultrapassado leva a que o produto já seja considerado impróprio para consumo. Estas preocupações juntam-se aos cada vez mais actuais esforços de sustentabilidade por parte da indústria na redução do volume de desperdício de carne – onde a capacidade de gestão do tempo de prateleira é um importante fator – desperdício este que, além de aumentar o impacto ambiental, está diretamente associado a significativas perdas económicas (Hyde et al. 2001). Como afirmam os mesmos autores,

“melhorias no desempenho ambiental introduzem um benefício directo na rentabilidade do negócio” (p.57, tradução livre).

No geral, todas as reacções oxidativas levam a um comprometimento dos atributos de qualidade sensorial e a uma experiência desagradável para o consumidor. De acordo com a explicação de Faustman et al. (2010), as reacções de oxidação lipídica (peroxidação) da carne, especificamente a dos ácidos gordos insaturados e do colesterol, têm implicações importantes relativamente à cor, ao *flavour* e à perda de funcionalidade estrutural das miofibras devido à geração de radicais livres (peróxidos) como produto secundário da reacção oxidativa. A oxidação proteica, para além de resultar na deterioração da cor da carne ao longo do tempo, como foi referido anteriormente, leva também à perda de atributos de funcionalidade valiosos para a carne processada, como a alteração da textura e a diminuição da capacidade de retenção de água (aumento do exsudado visível) (Faustman et al 2010). De forma a reduzir os efeitos indesejáveis das reacções oxidativas na carne vermelha, foram desenvolvidas estratégias no sentido de retardar a oxidação. Uma vez que os substratos da carne que influenciam a susceptibilidade à oxidação derivam da dieta do animal, a intervenção na mesma é possível, assim como a introdução de antioxidantes e outros ingredientes durante o processamento (Faustman et al. 2010).

O processo de oxidação lipídica na carne vermelha leva à produção de uma mistura complexa de produtos de oxidação primários e secundários, que reflecte o grau e a localização das insaturações dos ácidos gordos (Belitz et al. 2004). Aldeídos e cetonas são produzidos em quantidades mensuráveis e são responsáveis por muitos dos odores e *flavours* associados à rancificação da carne vermelha (Pearson et al. 1977; Faustman et al. 2010).

2.6 Antioxidantes

Os tecidos animais, como os que compõem a carne, estão sob constante stress oxidativo devido à acção de radicais livres, espécies reativas de oxigénio e pro-oxidantes gerados de forma exógena (calor e luz) e endógena (água e metais de transição, como o ferro). Há duas categorias principais de anti-oxidantes: 1) os que previnem/inibem reacções (entre os quais se encontram enzimas como a superóxido dismutase, catalase e glutathione peroxidase) e 2) os que neutralizam radicais livres (antioxidantes doadores de hidrogénio (ADH) e antioxidantes queladores de ferro; os ADH doam hidrogénio a radicais de piróxilo de lípidos ou proteínas, que são os principais responsáveis pelas reacções em cadeia de radicais livres num sistema biológico). Há vários mecanismos através dos quais

os anti-oxidantes oferecem defesa contra os radicais livres: neutralizando produtos que iniciam a peroxidação, quelando íons metálicos (incapacitando-os de gerar espécies reativas ou decompor peróxidos lipídicos), prevenindo a formação de peróxidos, quebrando a reação em cadeia de peroxidação e reduzindo concentrações locais de oxigénio (Bhatnagar and Kulshrestha 2017).

Existem dois tipos de antioxidantes na carne: 1) lipossolúveis – α -tocoferol (vitamina E) e β -caroteno (pró-vitamina A) – que se encontram nas membranas celulares e sub-celulares e cuja acção persiste após a morte do animal; e 2) hidrossolúveis – vitamina C, péptidos funcionais como a carnosina e anserina – que se encontram no citoplasma e cuja acção se mantém após a morte do animal, mas durante um tempo reduzido, devido a alterações do pH do tecido muscular. Os antioxidantes presentes na membrana celular e sub-celular têm a função de proteger os tecidos de reacções oxidativas, sendo capazes de atrasar, retardar ou prevenir estes processos (Lorenzo et al. 2014). Entre os antioxidantes de maior relevância na carne destacam-se a vitamina C ou ácido ascórbico, a vitamina E ou α -tocoferol e o β -caroteno, que são discutidos nos próximos subcapítulos. Actualmente, os níveis de anti-oxidantes na carne podem ser alterados através da suplementação dos mesmos na dieta do animal, da preferência dum tipo de alimentação relativo a outro (pastagem versus concentrado), da adição de antioxidantes *post mortem*, ou de uma combinação de ambas as técnicas. Uma vez que a sua acção é benéfica, é do interesse da indústria alimentar procurar aumentar os valores de anti-oxidantes na carne. Uma peça de talho proveniente de um animal alimentado no pasto está associada a níveis mais elevados de α -tocoferol, β -caroteno, ácido ascórbico e glutathione comparativamente a uma peça originária de um animal alimentado com alimento concentrado, sendo estes antioxidantes responsáveis por retardar a oxidação proteica e lipídica da carne e ajudarem na preservação da sua cor e odor (Descalzo and Sancho 2008). A ingestão de antioxidantes na dieta leva à sua inclusão nas células e apresenta melhores resultados na inibição da oxidação e aumento do tempo de prateleira quando comparado com a adição dos mesmos *post mortem* (Kerry et al. 1998). A adição de antioxidantes a carnes frescas ou processadas pode ser feita com vista à prevenção da rancificação e também à melhoria da estabilidade da cor e da preservação do *flavour* (Nam and Ahn 2003), melhorando desta forma as características da carne associadas a uma experiência positiva na compra, preparação e consumo da mesma. Esta técnica, assim como outras técnicas que incluem o embalamento a vácuo com vista à restrição do acesso ao oxigénio, constituiu uma das principais estratégias utilizadas pela indústria alimentar com vista a inibir reacções oxidativas (Kim et al. 2013; Tang et al. 2001). Liu et al. (2015) concluíram que a adição de anti-oxidantes à carne de bovino inibiu a oxidação lipídica e retardou a formação de metamioglobina. Segundo os mesmos autores, a oxidação lipídica está positivamente associada com a percentagem de metamioglobina e

negativamente associada com a cor vermelha da carne, como já foi discutido nos capítulos anteriores.

2.6.1 Vitamina C

A vitamina C ou ácido ascórbico é uma molécula hidrossolúvel que se encontra na face citoplasmática das membranas celulares e está envolvida na reação de regeneração da vitamina E de tocoferil para tocoferol. Os níveis de ácido ascórbico na carne não são habitualmente referidos, mas a localização próxima e a função realizada na reciclagem das moléculas de α -tocoferol podem ajudar na manutenção do estado antioxidante da peça de carne (Descalzo and Sancho 2008). A suplementação de vitamina C na dieta aparenta ter pouco ou nenhum efeito na estabilidade da carne segundo Morrissey et al. (1998) o que contrasta com os dados de um estudo que indica que a suplementação *post mortem* de vitamina C reduz a oxidação dos pigmentos da carne, melhorando a estabilidade da cor, e reduz a oxidação lipídica de peças provenientes de animais alimentados com concentrado, já não se verificando o mesmo efeito se o animal tiver sido alimentado no pasto (Realini et al. 2004).

No entanto, a vitamina C também apresenta propriedades pró-oxidantes. O ascorbato – que resulta da reação do ácido ascórbico com um radical livre – tem uma alta capacidade de redução de agentes metálicos, nomeadamente consegue fazer a conversão de Fe^{3+} em Fe^{2+} , que posteriormente vai reagir com moléculas de oxigénio ou peróxido de hidrogénio e originar os aniões superóxido ou hidroxilo, respectivamente, que promovem a oxidação lipídica e proteica (Rietjens et al. 2002). Assim, a capacidade antioxidante da vitamina C resulta do balanço entre as suas funções antioxidantes e pró-oxidantes.

2.6.2 Vitamina E

A vitamina E é uma vitamina lipossolúvel que inclui quatro tocoferóis (α -, β -, γ -, δ -) e quatro tocotrienóis (α -, β -, γ -, δ -) com carácter hidrofóbico, sendo o α -tocoferol a forma mais abundante na natureza e com maior actividade biológica (Wang and Quinn 2000; Herrera and Barbas 2001). Devido às suas propriedades lipofílicas, esta vitamina encontra-se presente nas membranas celulares e em lipoproteínas. A nível sub-celular, a distribuição de α -tocoferol não é uniforme e encontra-se sobretudo presente em lisossomas, quando comparado com outras membranas sub-celulares. O α -tocoferol está envolvido numa variedade de processos fisiológicos e bioquímicos. A sua principal acção na membrana celular consiste em proteger os PUFA da acção oxidante dos radicais livres, actuando assim

como o principal antioxidante lipossolúvel no corpo. Possui também algumas funções como estabilizador de membrana celular e ainda algumas propriedades pró-oxidantes (Herrera and Barbas 2001). Em termos práticos, o α -tocoferol é um nutriente essencial que estabiliza os PUFA e tem um papel fulcral na indústria alimentar no que concerne à qualidade da carne, particularmente em ruminantes (Wood et al. 2008) ajuda na redução/prevenção da oxidação lipídica e nas perdas por exsudação, para além de promover a estabilidade da cor como consequência da relação entre a oxidação lipídica e a oximioglobina no tecido muscular (Morrissey et al. 1998; Ripoll et al. 2011), contribuindo para a consequente obtenção de produtos finais com um tempo de prateleira aumentado.

A alimentação em pastagem fornece antioxidantes naturais que são mais eficientemente incorporados na carne, sendo que a suplementação de vitamina E em dietas de acabamento pode ter resultados muito variáveis devido ao tipo de dieta base fornecida ao animal – qualidade da pastagem, da silagem, do tipo de suplementação, entre outros (Descalzo and Sancho 2008).

2.6.3 β -caroteno

Os carotenoides são uma classe de hidratos de carbono que se classificam pela sua estrutura química, sendo definidos como carotenos, se forem constituídos exclusivamente por hidratos de carbono, ou como xantófilas, se incluírem átomos de oxigénio na sua estrutura. Os carotenoides são nutrientes lipossolúveis com capacidades de quelação de iões metálicos, neutralização de radicais livres e protecção contra a foto-oxidação (Airado-Rodríguez et al. 2011; Bhatnagar and Kulshrestha 2017). Quando o animal é criado num sistema de produção em extensivo e alimentado com uma dieta à base de erva, habitualmente a gordura na sua carcaça vai apresentar uma cor mais amarelada comparativamente a um animal alimentado à base de concentrado. Sendo por vezes negativamente considerada por parte do consumidor, esta cor é proveniente dos carotenos presentes na erva e está associada a um maior conteúdo de anti-oxidantes e a um perfil de ácidos gordos mais saudável (Dunne et al. 2009).

O β -caroteno é, de entre os carotenoides, o mais estudado e o principal precursor da vitamina A (retinol). É consensualmente considerado uma fonte segura de vitamina A para a dieta humana tendo uma DDR de 2-4 mg/dia (Grune et al. 2010). A carne proveniente de um animal alimentado no pasto apresenta níveis de β -caroteno que podem ser mais de sete vezes superiores aos apresentados na carne proveniente de um animal alimentado com concentrado – 0,45 μ g/g *versus* 0,06 μ g/g (Descalzo et al. 2005).

2.7 Pró-oxidantes

A carne é uma matriz complexa constituída por gordura, proteína e ferro livre e ligado, sendo que todos estes elementos participam no processo oxidativo (Van Hecke et al. 2017). Como já foi referido, os tecidos animais estão sujeitos a um constante stress oxidativo causado pela acção de várias substâncias, entre as quais pró-oxidantes.

2.7.1 Teor de ferro

Metais de transição, como o ferro e o cobre, participam activamente no processo de oxidação da carne. No entanto, iões de cobre estão presentes em proporções mínimas nos músculos e, como tal, a sua importância relativa como promotores da oxidação, por comparação aos iões de ferro (um metal encontrado na mioglobina das células do músculo esquelético de animais), é bastante reduzida.

Apesar de, segundo vasta evidência na literatura, o grupo heme que contém o ferro na mioglobina ser o factor-chave na promoção da oxidação da carne vermelha, alguns autores, como Estévez e Heinonen (2010), consideram que ambas as formas de ferro (heme e não heme) são altamente responsáveis pela formação de semialdeídos proteicos na carne e, como tal, são tradicionalmente considerados os principais promotores da oxidação lipídica na mesma (Monahan et al. 1993). A contribuição relativa de cada uma das partes de ferro ainda permanece, no entanto, indefinida (Estévez and Heinonen 2010).

Relativamente ao ferro heme, os músculos apresentam uma grande variabilidade, dependendo da espécie do animal e do músculo em questão (Van Hecke et al. 2017). As fibras glicolíticas apresentam uma menor concentração de ferro heme, enquanto que as fibras oxidativas apresentam uma concentração bastante superior deste elemento (Cross et al. 2012). Relativamente à espécie, carnes brancas apresentam uma menor concentração de ferro heme (0,12 a 0,51 mg/100 g), enquanto que carnes vermelhas apresentam uma concentração bastante superior deste elemento, sendo que a carne de vaca pode chegar a concentrações de 0,93 a 2,11 mg/100 g de carne (Cross et al. 2012).

Durante o processamento, metais de transição podem incorporar-se na carne através do contacto com superfícies de trabalho ou instrumentos metálicos (Faustman et al. 2010). O ferro possui dois mecanismos principais de pró-oxidação: 1) reação de ferro ferroso com água, o que origina radicais livres de hidroxilo, com elevada capacidade oxidativa e 2) decomposição de hidroperóxidos lipídicos em radicais livres, promotores da oxidação

lipídica (Faustman et al. 2010). Rowley e Haliwell (1983) verificaram que o ferro causa alterações na conformação da proteína, no conteúdo de carbonilo, na formação de polímeros proteicos e na perda de miosina e actina. Esta acção deve-se à capacidade de o ferro catalisar a formação de radicais livres de hidroxilo.

Nas células musculares, o estado *redox* dos metais de transição é mais importante do que a concentração do metal propriamente dita. Apesar de ambos os ferros (ferroso e férrico) participarem na decomposição de hidroperóxidos para formação radicais livres, a actividade catalítica do ferro ferroso (Fe^{2+}) é significativamente maior que a do ferro férrico (Fe^{3+}) (Papuc et al. 2017). Tal como noutros processos de oxidação, também a capacidade oxidativa do ferro é influenciada por vários factores, entre os quais o pH. Alguns autores (Reeder and Wilson 2001; Kristinsson and Hultin 2004), verificaram que um pH baixo promove não só a dissociação de subunidades de hemoglobina (o que as faz perder o grupo heme), como também a libertação de ferro iónico do grupo heme, o que facilita as reacções de oxidação.

2.7.2 Composição das membranas celulares (ácidos gordos poli-insaturados)

A oxidação lipídica é um processo mediado por radicais livres, que resulta na formação de subprodutos da oxidação (como hidroperóxidos) e, em última análise, na deterioração da qualidade da carne, através de vários processos. No músculo, este processo inicia-se ao nível da membrana celular, com a oxidação dos fosfolípidos (constituintes da membrana celular com uma alta concentração de ácidos gordos insaturados), que são susceptíveis à oxidação lipídica (Morrissey et al. 1994; Cheng et al. 2016). Carnes magras contêm uma alta percentagem de fosfolípidos, o que faz com que estes sejam o maior contribuinte para a oxidação neste tipo de carnes. Para além disto, a susceptibilidade da carne à oxidação lipídica varia consoante a espécie animal em causa. A carne de bovino apresenta uma concentração mais baixa de ácidos gordos insaturados relativamente às carnes de suíno e galinha, o que a torna menos sensível à oxidação lipídica que essas carnes. Outros factores influenciam a oxidação, como o processamento industrial da carne, que provoca a libertação dos fosfolípidos da membrana, permitindo que ácidos gordos insaturados reajam com oxigénio e entrem em contacto com enzimas e pigmentos heme (ricos em ferro), promovendo a auto-oxidação da carne (Cheng et al. 2016).

2.8 Equilíbrio entre antioxidantes e pró-oxidantes

Diferentes modelos têm sido desenvolvidos para estudar o equilíbrio e a interação entre os antioxidantes e os pró-oxidantes presentes na carne. As defesas antioxidantes consistem em compostos não enzimáticos hidro e lipossolúveis tais como: vitamina C, vitamina E, carotenoides, ubiquinóis, polifenóis, tióis celulares e enzimas como a superóxido dismutase, catalase e glutathione peroxidase. Os sistemas enzimáticos e não enzimáticos operam em conjunto para contrabalançar a acção dos pró-oxidantes no músculo (Decker et al. 2000; Descalzo et al. 2008), contribuindo para um equilíbrio entre antioxidantes e pró-oxidantes nas células e tecidos do animal. No entanto, o processo de peroxidação autocatalítico na carne começa imediatamente após o abate. As reacções bioquímicas que acompanham a conversão de músculo em carne dão origem a condições nas quais o processo de oxidação lipídica deixa de ser controlado e, por consequência, o balanço entre factores pró-oxidativos e anti-oxidantes favorece a oxidação. A actividade metabólica continua durante o período imediatamente após o abate, mas devido à cessação do fluxo sanguíneo nos tecidos, ocorre uma acumulação de ácido láctico nos mesmos, o que baixa gradualmente o pH de um valor quase neutro a um valor ligeiramente ácido (aproximadamente pH 5,5). Para além disto, na fase pós abate, os mecanismos de defesa das células não poderão funcionar como no animal vivo, devido a alterações quantitativas em vários metabolitos e em propriedades físicas das próprias células e tecidos (Morrissey et al. 1994).

A taxa e extensão da oxidação na carne também é influenciada por factores pré-abate, como o stress, e factores pós-abate, como pH, temperatura da carcaça e técnicas como estimulação eléctrica. Para além disto, qualquer desintegração das membranas celulares através de acções mecânicas como desossar e picar a carne, ou submeter a mesma a cozedura/confecção, alteram a compartimentalização celular, facilitando a interação de pró-oxidantes com ácidos gordos insaturados, o que resulta na criação de radicais livres e na propagação de reacções oxidativas na carne (Asghar and Bhatti 1988; Cheng et al. 2016).

2.9 TBA

O teste de TBA (ácido tiobarbitúrico) é utilizado globalmente para a determinação de alterações auto-oxidativas da gordura em alimentos e tecidos biológicos (Tokur et al. 2006).

Isto deve-se sobretudo ao facto de ser um teste relativamente simples e pelos seus resultados serem altamente correlacionados com avaliações sensoriais.

Dos processos que ocorrem na auto-oxidação de gorduras, a formação de radicais livres é o mais bem estudado e compreendido (Guillén-Sans and Guzmán-Chozas 1998). A auto-oxidação de gorduras leva à formação de produtos de oxidação lipídica, entre os quais se encontram hidroperóxidos lipídicos, precursores do malonaldeído (MDA). O MDA é um dos principais produtos da oxidação lipídica, sendo por isto considerado o principal marcador de peroxidação lipídica (Zeb and Ullah 2016). O princípio básico do método TBA é a reação de uma molécula de MDA com duas moléculas de TBA, o que origina o complexo rosado/vermelho MDA-TBA (Gutteridge 1981), que pode ser determinado quantitativamente por espectrofotometria (532 nm), cromatografia ou através de técnicas de processamento de imagens (Zeb and Ullah 2016). A segunda fase do processo de auto-oxidação dá origem a alguns aldeídos que também reagem com o TBA, sendo responsáveis por alterações de sabor e odor. Aldeídos e outras substâncias reativas são uma das principais causas de rancificação dos alimentos, durante a preparação e armazenamento. Outras substâncias como cetonas, cetoesteróides, ácidos, esteres, açúcares, imidos e amidos, aminoácidos, proteínas oxidadas, piridinas, pirimidinas e vitaminas, também podem reagir com o TBA; estas substâncias denominam-se TBARS (substâncias reativas ao TBA) e formam-se maioritariamente na carne e derivados da mesma. TBARS são consideradas actualmente o marcador standard para o *stress* oxidativo resultante da peroxidação lipídica em tecidos biológicos (Tsai and Huang 2015), o que inclui a carne e outros alimentos. A sua concentração aumenta em resposta ao *stress* oxidativo. Os resultados desta análise são normalmente apresentados na forma de equivalentes de MDA que, como já foi referido, é um composto que resulta da decomposição de peróxidos dos ácidos gordos poli-insaturados.

Em muitas situações, e apesar das críticas que por vezes recebe por não ser específico nem sensível para a detecção de níveis baixos de MDA, o método de TBA é útil na comparação de amostras do mesmo material biológico em diferentes estados de oxidação.

Relativamente ao método do teste, o reagente TBA pode ser adicionado diretamente ao alimento, juntamente com um ácido. A mistura é então aquecida por um período de tempo suficiente para obter o máximo de desenvolvimento de cor possível. O pigmento rosa formado durante o aquecimento pode ser extraído para butanol ou para uma mistura de butanol-piridina, após arrefecimento, para ser quantificado (Papastergiadis et al. 2012).

Estudos indicam que carne proveniente de animais alimentados em pastagem contém menos quantidade de TBARS e produção de produtos voláteis quando comparada com carne proveniente de animais alimentados com concentrado, devido à protecção

conferida por anti-oxidantes naturalmente presentes na pastagem (Descalzo et al. 2005). Mercier et al. (2004) demonstraram também que, ao realizarem o acabamento de vacas Charolesas com pastagem, isto conferia uma maior protecção a nível muscular contra a oxidação lipídica e proteica, comparativamente a vacas com um acabamento com concentrado (Descalzo et al. 2005).

O *flavour* da carne é o resultado de uma interação complexa entre precursores derivados dos componentes lipídicos e não lipídicos presentes na carne. Os lípidos originam compostos voláteis que contribuem para o aroma da carne (Mottram 1998). Para além disto, os produtos da oxidação lipídica reagem rapidamente com proteínas, levando a modificações organoléticas e perda de valor nutricional da carne (Guyon et al. 2016). A determinação de valores de TBARS (que incluem hidroperóxidos e aldeídos associados à oxidação lipídica) constitui um bom indicador da oxidação lipídica na carne e nos produtos da carne (Fernández et al. 1997; Descalzo et al. 2005).

2.10 Oxidação lipídica/mioglobina

A oxidação de produtos alimentares constitui um desafio para a indústria alimentar, na medida em que afecta negativamente a qualidade dos mesmos, nomeadamente carne e derivados. De facto, a oxidação da carne é o principal fator não microbiológico na deterioração da qualidade da carne (Xiong and Decker 1995; Descalzo et al. 2007; Lund et al. 2010). A susceptibilidade da carne a processos oxidativos deve-se às suas altas concentrações de catalisadores de oxidação (entre os quais o ferro e a mioglobina) e lípidos (Asghar et al. 1988). Estes processos dão origem a alterações na qualidade da carne, entre as quais: deterioração do *flavour*; alteração da cor; perda de nutrientes; formação de compostos tóxicos; os quais vão levar a uma reduzida aceitabilidade por parte do consumidor (Kanner 1994; Papuc et al. 2017).

Após o abate e durante o processamento da carne, a produção de espécies químicas reativas, a destruição das células, o contacto com o oxigénio e a luz, a presença de ferro (heme e não heme) e a irradiação gama podem conduzir à deterioração oxidativa da mesma e ao desenvolvimento de alterações de odor e sabor, iniciando os processos de oxidação lipídica e proteica (Papuc et al. 2017). Ambos se processam de forma semelhante (através de uma reação em cadeia de radicais livres), apesar de na oxidação proteica haver interações de uma maior complexidade e uma quantidade maior de produtos de oxidação (Lund et al. 2010). A interação entre os dois tipos de oxidação tem sido alvo de debate na investigação da indústria alimentar, mas crê-se que estão interligados. Lund et al. (2010)

sugeriram que o ambiente (tipo de músculo, espécie animal, tipo de alimentação, etc.) no qual os dois tipos de oxidação ocorrem é determinante na interação entre os dois processos. Estes autores sugerem que, apesar da oxidação proteica poder acontecer na ausência de lípidos, como já havia sido descrito por Xiong e Decker (1995), – é altamente improvável que as oxidações proteica e lipídica ocorram de forma independente na carne. Anteriormente, Viljanen et al. (2004) concluíram que estes processos estão intimamente interligados na carne. Uma vez que a oxidação lipídica ocorre mais rapidamente que a degradação oxidativa da mioglobina em modelos de estudo de carne (Lund et al. 2010), é mais provável que os produtos da oxidação lipídica (radicais e hidroperóxidos) promovam a oxidação proteica, e não o contrário (Viljanen et al. 2004; Vuorela et al. 2005). Kanner (1994), Kanner et al. (1992) e Chaijan (2008) concluíram que a oxidação da oximioglobina produz metamioglobina e água, que podem induzir a oxidação lipídica. Para além disto, produtos finais da oxidação lipídica, tais como aldeídos, promovem a oxidação da oximioglobina. De todas as maneiras, sabe-se que a oxidação lipídica tem uma correlação positiva com a oxidação da mioglobina; está comprovado que a oxidação da mioglobina forma compostos químicos que aceleram a oxidação lipídica, e vice-versa (Khan 2014). Por este motivo, compreender a relação entre os processos de oxidação lipídica e da mioglobina na carne pode ajudar a aumentar a qualidade da mesma (Khan 2014).

3 Material e Métodos

3.1 Caracterização da amostra

As peças de vaca (músculo *longissimus lumborum*) analisadas neste estudo permaneceram na sua embalagem original até perfazerem o tempo de vácuo estipulado, que variou de 8 a 30 dias em ambiente refrigerado (0 - 4°C). Em seguida, foram fatiadas e os bifes resultantes embalados em cuvetes. As cuvetes foram armazenadas em ambiente refrigerado (0 - 4°C) durante o tempo estipulado, entre 0 e 12 dias, sendo então abertas e os bifes sujeitos a análise. Todo este procedimento inicial foi realizado no Centro de Processamento de Carnes da SONEAE em Santarém (CPC).

No delineamento deste estudo foram definidos sete tempos de embalagem a vácuo, tendo em conta a realidade do CPC, o tempo expectável que as peças de vaca já levavam de vácuo aquando da chegada ao CPC e o prazo de validade máximo atribuído a peças embaladas a vácuo (30 dias). Para cada um dos períodos foram utilizadas duas vacas, perfazendo um total de 14. As vacas utilizadas neste estudo pertenciam ao mesmo lote, tendo as mesmas datas de abate e embalagem a vácuo (representado na Tabela 1).

Tabela 1 – Esquema de avaliação da carne de acordo com o período de embalagem a vácuo e de acordo com a respectiva validade do vácuo.

Período de embalamento a vácuo (dias)	Validade do vácuo (dias)	Vazia	
8	22	A	B
12	18	A	B
16	14	A	B
20	10	A	B
24	6	A	B
28	2	A	B
30	0	A	B

No dia definido o período de vácuo foi interrompido, sendo as embalagens originais abertas e as vacas fatiadas, com os respectivos bifes embalados individualmente em cuvetes. No delineamento do estudo foi definido que seriam analisados cinco tempos de prateleira com intervalos de três dias, começando ao dia 0 (dia da interrupção do

embalamento em condições de vácuo) e indo até ao dia 12; ou seja, foram analisados os dias 0, 3, 6, 9 e 12. De cada vazia foram recolhidos cinco bifes para se realizar a análise do efeito dos tempos de vácuo e prateleira sobre as características físico-químicas dos mesmos, conforme apresentado na Tabela 2.

Tabela 2 – Bifes utilizados ao longo do estudo, de acordo com o tempo de vácuo e tempo de prateleira.

Tempo de vácuo (dias)	Bife	Tempo de prateleira (dias)				
		0	3	6	9	12
8	A	1	1	1	1	1
	B	1	1	1	1	1
12	A	1	1	1	1	1
	B	1	1	1	1	1
16	A	1	1	1	1	1
	B	1	1	1	1	1
20	A	1	1	1	1	1
	B	1	1	1	1	1
24	A	1	1	1	1	1
	B	1	1	1	1	1
28	A	1	1	1	1	1
	B	1	1	1	1	1
30	A	1	1	1	1	1
	B	1	1	1	1	1

Cada amostra foi identificada utilizando um código alfanumérico que indicava a vazia da qual esta provinha, o tempo de armazenamento em vácuo a que a vazia foi sujeita e o tempo de prateleira a que o bife foi sujeito. Ou seja, a amostra 16A09 é proveniente de um bife da vazia A que foi sujeita a 16 dias de vácuo antes de ser fatiada e o bife a 9 dias de embalamento em cuvette.

As amostras foram então transportadas para a Escola Superior Agrária de Santarém (ESAS) para análise colorimétrica e seguidamente embaladas a vácuo e congeladas (-18°C) para as posteriores análises bioquímicas.

3.2 Quantificação dos teores de α -tocoferol e β -caroteno

3.2.1 Preparação das amostras

A preparação das amostras (músculo *longissimus lumborum*) foi realizada em duplicado usando o método descrito por Prates et al. (2006).

3.2.2 Análise por Cromatografia líquida de alta performance (HPLC)

A análise simultânea do α -tocoferol e β -caroteno das amostras armazenadas nos vias de cor âmbar foi realizada através de HPLC (Agilent série 1100) composto por uma coluna de sílica de fase normal (ZorbaxRx-Stil com a pré-coluna analítica 12.5mm, 4.6 mm ID x 25 cm, com tamanho de partícula 5 μ m, Agilent Technologies Inc., Palo Alto, CA, USA), uma bomba quaternária (Agilent G1311A), um desgaseificador de solventes (Agilent G1322A), um compartimento de colunas termostaticado com arrefecimento (Agilent, G1316A), um amostrador automático (Agilent, G1313A), um detector UV-Vis de fotodíodos (Agilent G1315A) para a detecção do β -caroteno (comprimento de onda de 450 nm) e um detector de fluorescência (Agilent G1321A) para a determinação dos tococromanóis (excitação a um comprimento de onda de 295 nm e emissão a 325 nm). Na fase móvel foi utilizado hexano-isopropanol (99:1) com um fluxo de 1.0 ml/min. O tempo de corrida foi de 20 minutos, a temperatura da coluna foi ajustada aos 20 °C e o volume de injeção variou entre 10-100 μ l de modo a que as áreas dos picos dos cromatogramas estivessem dentro do intervalo de valores usado na construção da curva de calibração para cada composto. Na quantificação dos compostos foi utilizado o método do padrão externo através da curva de calibração previamente realizada. A leitura dos cromatogramas foi realizada com recurso ao Software HP ChemStation for LC 3D (Rev. A.09.01, Agilent Technologies Inc., Palo Alto, CA, USA).

3.3 Determinação dos valores de malonaldeído (MDA)

A quantificação do malonaldeído (MDA) foi realizada de acordo com o método descrito por Seljeskog et al. (2006) com modificações na desproteinização da amostra como descrito por Mendes et al. (2009). Sucintamente, carne picada (5g) foi homogeneizada com solução de ácido tricloroacético (TCA) (10 ml; 75 g/l⁻¹ TCA, 1 g/l⁻¹ EDTA, 1 g/l⁻¹ galato de

propilo) utilizando um homogeneizador Ultra-turrax (10 000 rpm, 1 min). De seguida, o homogeneizado foi filtrado (Whatman #1) e o filtrado foi centrifugado (5 000 rpm, 10 min). O sobrenadante da amostra (0,5 ml) foi misturado com TBA (1,5 ml; 40 mM), aquecido (97°C, 60 min), e arrefecido em arca de congelação (-20°C) por 20 min. Foi adicionado metanol (3 ml) e a solução resultante foi filtrada (poro de 0,22 µm) e mantida a -80°C até ser realizada a injeção para a quantificação de MDA.

As amostras (10 µl) foram injectadas num cromatógrafo líquido de alta performance (Agilent 1100 series, Agilent, USA). A separação do aduto MDA-TBA foi realizada utilizando uma coluna de fase reversa (4,6 × 150 mm; 5 µm; Phenomenex Gemini ODS C18 110Å, Phenomenex, Torrance, CA, USA), operando isocraticamente com uma fase móvel (dihidrogenofosfato de potássio 50 mM, metanol, e acetonitrilo na proporção de 72:17:11; v:v:v) bombeados a 1,0 ml/min⁻¹, sendo os comprimentos de onda do detector espectrofluorimétrico fixados em 525 nm (excitação) e 560 nm (emissão).

O aduto MDA-TBA foi identificado e quantificado por comparação com tetraetoxipropano (TEP) que foi usado como o padrão para o MDA. Uma curva padrão foi obtida a partir de TEP diluído na solução TCA em concentrações na faixa de 0,6-10,0 µM, sem hidrólise antes da reação do TBA. As áreas de pico foram obtidas com o software Agilent ChemStation for LC (Agilent, USA). Os resultados foram expressos em mg de MDA por kg de carne.

3.4 Determinação da cor

Foi feita uma medição objectiva da cor da superfície dos bifes da vazia (cortes longitudinais do músculo *longissimus lumborum*) utilizando um colorímetro Minolta CR 300 (Konica Minolta Holdings Inc., Tokyo, Japan) e o programa informático SpectraMagic™ NX (Konica Minolta Holdings Inc., Tokyo, Japan). Foram feitas três medições consecutivas e calculadas as médias aritméticas para determinar as coordenadas luminosidade (L*), intensidade do vermelho (a*) e intensidade do amarelo (b*), utilizadas no método CIE L*a*b*, da *Commission Internationale de L'Eclairage* (CIE), para a descrição da cor.

3.5 Tratamento estatístico

Os dados foram compilados e processados utilizando um software de folha de cálculo (Excel® 2010, Microsoft, Redmond, WA, USA) e um software de computação e gráficos estatísticos (SAS Institute Inc.).

Foi utilizado o método PROC MIXED do *Statistical Analysis Systems Institute* (SAS, 2004) para analisar os parâmetros em estudo, tendo sido realizadas análises estatísticas de forma a verificar: efeito do período de vácuo, efeito do tempo de prateleira e efeito da interação entre o período de vácuo e o tempo de prateleira sobre os teores de α -tocoferol, β -caroteno, MDA e valores das coordenadas colorimétricas descritivas da cor no sistema CIE L*a*b*. O nível de significância adotado foi de 5% ($p < 0,05$).

4 Resultados

Foram analisadas 70 amostras do músculo *longissimus lumborum* (LL), correspondentes a duas vazias por cada um dos sete períodos de vácuo e analisadas a cada um dos cinco tempos de prateleira ($2 \times 7 \times 5 = 70$).

4.1 α -tocoferol

Os resultados dos teores de α -tocoferol nas vazias (músculo *longissimus lumborum*) são apresentados nas três tabelas seguintes (Tabela 3, Tabela 4 e Tabela 5).

Na Tabela 3 são apresentados os teores médios de α -tocoferol medidos em todas as amostras LL submetidas aos diferentes períodos de vácuo, sempre em refrigeração (0-4°C.), independentemente do tempo de prateleira (tempo de prateleira foi utilizado como uma medida de tipo único). É possível verificar que todos os tempos de vácuo apresentaram significância estatística ($p < 0,05$) sobre os teores médios de α -tocoferol das amostras LL, com o maior (3,096 $\mu\text{g/g}$ de carne fresca) e o menor (0,856 $\mu\text{g/g}$ de carne fresca) teor de α -tocoferol a ocorrer aos 8 e 30 dias de vácuo, respectivamente.

Tabela 3 – Efeito do tempo de vácuo sobre os teores médios de α -tocoferol das vazias (músculo *longissimus lumborum*) (expresso em $\mu\text{g/g}$ de carne fresca)

Tempo de vácuo (dias)	α -tocoferol	<i>p</i>
8	3,096	<,0001
12	1,407	0,0002
16	2,465	<,0001
20	1,693	<,0001
24	2,513	<,0001
28	2,175	<,0001
30	0,856	0,0028

Os teores médios de α -tocoferol medidos nos diferentes tempos de prateleira, independentemente do período de vácuo a que as amostras LL foram submetidas (tempo de vácuo foi utilizado como uma medida de tipo único) são apresentados na Tabela 4. À

semelhança do que acontece nos tempos de vácuo, todos os tempos de prateleira apresentaram resultados com relevância estatística muito significativa ($p < 0,0001$) relativos aos teores médios de α -tocoferol das amostras LL. Os tempos de prateleira 0 e 9 dias apresentaram o maior (2,487 $\mu\text{g/g}$ de carne fresca) e o menor (1,836 $\mu\text{g/g}$ de carne fresca) teor de α -tocoferol, respectivamente.

Tabela 4 – Efeito do tempo de prateleira em refrigeração sobre os teores médios de α -tocoferol das vazias (músculo *longissimus lumborum*) (expresso em $\mu\text{g/g}$ de carne fresca)

Tempo de Prateleira (dias)	α -tocoferol	p
0	2,487	<,0001
3	2,035	<,0001
6	1,896	<,0001
9	1,836	<,0001
12	1,892	<,0001

Na Tabela 5 apresentam-se os teores de α -tocoferol medidos a cada um dos tempos analisados, tendo em conta o efeito combinado do tempo de vácuo com o tempo de prateleira. O tempo de vácuo e o tempo de prateleira apresentaram um efeito combinado estatisticamente significativo ($p < 0,05$) sobre os teores de α -tocoferol das amostras LL em todas as combinações, excetuando nas combinações de 12 dias de vácuo com 3 e 6 dias de tempo de prateleira e 30 dias de vácuo com 3, 6 e 12 dias de tempo de prateleira. O maior teor de α -tocoferol (4,022 $\mu\text{g/g}$ de carne fresca) foi obtido na combinação de 24 dias de vácuo com 3 dias de tempo de prateleira.

Tabela 5 – Efeito combinado do tempo de vácuo e tempo de prateleira sobre os teores de α -tocoferol das vazias (músculo *longissimus lumborum*) (expresso em $\mu\text{g/g}$ de carne fresca)

Tempo de vácuo (dias)	Tempo de prateleira (dias)				
	0	3	6	9	12
8	3,444	3,066	2,628	2,796	3,546
12	2,549	0,805*	0,702*	1,310	1,667
16	3,925	2,569	2,428	1,351	2,052
20	2,026	1,515	1,257	2,062	1,605
24	1,998	4,022	3,031	1,674	1,839
28	1,849	1,541	2,654	2,693	2,138
30	1,616	0,729*	0,574*	0,966	0,394*

VALORES ASSINALADOS COM * TÊM $P > 0,05$ SENDO OS RESTANTES $P < 0,01$

4.2 β -caroteno

Os resultados dos teores de β caroteno são apresentados nas três tabelas seguintes (Tabela 6, Tabela 7 e Tabela 8).

Na Tabela 6 são apresentados os teores médios de β -caroteno medidos em todas as amostras LL submetidas aos diferentes períodos de vácuo, sempre em refrigeração ($0-4^{\circ}\text{C}$), independentemente do tempo de prateleira (tempo de prateleira foi utilizado como uma medida de tipo único). Pela análise da tabela é possível verificar que o tempo de vácuo apresentou um efeito estatisticamente muito significativo ($P < 0,0001$) sobre os teores de β -caroteno das amostras LL, tendo o tempo de vácuo de 8 dias apresentado o teor de mais elevado de β -caroteno ($6,667 \mu\text{g/g}$ de carne fresca).

Tabela 6 – Efeito do tempo de vácuo sobre os teores médios de β -caroteno das vazias (músculo *longissimus lumborum*) (expresso em $\mu\text{g/g}$ de carne fresca)

Tempo de vácuo (dias)	β -caroteno	p
8	6,667	<,0001
12	4,522	<,0001
16	3,629	<,0001
20	4,632	<,0001
24	1,857	<,0001
28	2,352	<,0001
30	5,235	<,0001

Por outro lado, se analisarmos o efeito do tempo de prateleira, independentemente do período de vácuo a que as amostras foram submetidas (tempo de vácuo foi utilizado como uma medida de tipo único), sobre os teores médios de β -caroteno medidos nos diferentes tempos de prateleira (Tabela 7) verifica-se que o mesmo apresentou um efeito estatisticamente muito significativo ($p < 0,0001$) sobre os teores de β -caroteno das amostras LL e que o teor de β -caroteno diminuiu com o aumento do tempo de prateleira (de 5,417 $\mu\text{g/g}$ de carne fresca para 3,318 $\mu\text{g/g}$ de carne fresca).

Tabela 7 – Efeito do tempo de prateleira em refrigeração sobre os teores médios de β -caroteno das vazias (músculo *longissimus lumborum*) (expresso em $\mu\text{g/g}$ de carne fresca)

Tempo de Prateleira (dias)	β -caroteno	p
0	5,417	<,0001
3	4,168	<,0001
6	4,017	<,0001
9	3,718	<,0001
12	3,318	<,0001

Também se realizou a análise do efeito combinado do tempo de vácuo com o tempo de prateleira sobre os teores de β -caroteno (Tabela 8). Em todos os tempos analisados verificou-se que o tempo de vácuo e o tempo de prateleira apresentaram um efeito combinado estatisticamente muito significativo ($p < 0,0001$) nos teores de β -caroteno das

amostras LL. O teor de β -caroteno mais elevado (8,462 $\mu\text{g/g}$ de carne fresca) verificou-se nos 8 dias de tempo de vácuo e 0 dias de tempo de prateleira, por outro lado, o menor teor de β -caroteno (1,044 $\mu\text{g/g}$ de carne fresca) foi apresentado por 24 dias de tempo de vácuo e 12 dias de tempo de prateleira.

Tabela 8 – Efeito combinado do tempo de vácuo e tempo de prateleira sobre o teor de β -caroteno das vazias (músculo *longissimus lumborum*) (expresso em $\mu\text{g/g}$ de carne fresca; $p<.0001$)

Tempo de vácuo (dias)	Tempo de prateleira (dias)				
	0	3	6	9	12
8	8,462	7,436	6,774	5,026	5,634
12	6,030	4,317	4,463	3,745	4,053
16	4,945	3,634	2,209	3,830	3,526
20	6,371	4,330	5,144	4,426	2,891
24	2,422	2,368	1,730	1,720	1,044
28	2,594	2,632	2,964	2,352	1,219
30	7,096	4,458	4,833	4,927	4,862

4.3 MDA

Os resultados dos teores de MDA são apresentados nas três tabelas seguintes (Tabela 9, Tabela 10 e Tabela 11).

Na Tabela 9 são apresentados os teores médios de MDA medidos em todas as amostras de LL submetidas aos diferentes períodos de vácuo, sempre em refrigeração (0-4°C), independentemente do tempo de prateleira (tempo de prateleira foi utilizado como uma medida de tipo único). O tempo de vácuo de 8 dias foi o único que não apresentou um efeito estatisticamente significativo ($p=0,492$) sobre os valores de MDA das amostras LL, sendo também este tempo de vácuo aquele que apresentou o menor valor de MDA (0,268 mg/kg de carne).

Tabela 9 – Efeito do tempo de vácuo sobre os teores médios de MDA das vazias (músculo *longissimus lumborum*) (expresso em mg/kg de carne fresca)

Tempo de vácuo (dias)	MDA	<i>p</i>
8	0,268	0,492
12	0,982	<0,05
16	1,166	<0,05
20	0,964	<0,05
24	1,721	<0,05
28	1,569	<0,05
30	1,336	<0,05

A análise dos valores médios de MDA medidos nos diferentes tempos de prateleira, independentemente do período de vácuo a que as amostras LL foram submetidas (tempo de vácuo foi utilizado como uma medida de tipo único), encontra-se apresentado na Tabela 10. O primeiro tempo de prateleira (0 dias) foi o único que não apresentou um efeito com significância estatística ($p=0,172$) sobre os valores médios de MDA. Foi também neste tempo de prateleira que se verificou o menor valor de MDA (0,298 mg/kg de carne).

Tabela 10 – Efeito do tempo de prateleira em refrigeração sobre os teores médios de MDA das vazias (músculo *longissimus lumborum*) (expresso em mg/kg de carne fresca)

Tempo de Prateleira (dias)	MDA	<i>p</i>
0	0.298	0,172
3	1.128	<,0001
6	1.345	<,0001
9	1.233	<,0001
12	1.714	<,0001

Foi também estudado o efeito combinado do tempo de vácuo com o tempo de prateleira sobre os valores médios de MDA das amostras LL (Tabela 11). Pela análise da tabela é possível verificar que em alguns dos tempos analisados houve um efeito estatisticamente significativo ($p<0,05$) do tempo de vácuo com o tempo de prateleira sobre

os valores médios de MDA, tendo-se verificado o maior valor de MDA (2,872 mg/kg de carne) aos 24 dias de vácuo com 12 dias de tempo de prateleira.

Tabela 11 – Efeito combinado do tempo de vácuo e tempo de prateleira sobre o teor de MDA das vazias (músculo *longissimus lumborum*) (expresso em mg/kg de carne fresca)

Tempo de vácuo (dias)	Tempo de prateleira (dias)				
	0	3	6	9	12
8	0,082*	0,240*	0,355*	0,3197*	0,341*
12	0,149*	1,035*	1,139*	1,048*	1,537
16	0,130*	1,241	1,427	1,234	1,798
20	0,240*	0,847*	0,973*	1,068*	1,693
24	0,280*	1,933	1,694	1,824	2,872
28	0,516*	1,369	1,916	1,820	2,225
30	0,687*	1,232	1,915	1,319	1,528

VALORES ASSINALADOS COM * TÊM $P > 0,05$ SENDO OS RESTANTES $P < 0,05$

4.4 Cor

Os resultados da análise colorimétrica são apresentados nas cinco tabelas seguintes (Tabela 12 a Tabela 16).

A Tabela 12 apresenta a média dos valores de luminosidade (L^*), intensidade de vermelho (a^*) e intensidade de amarelo (b^*) medidos em todas as amostras de LL que foram submetidas aos diferentes períodos de embalagem a vácuo, independentemente do tempo de prateleira (tempo de prateleira foi utilizado como uma medida de tipo único). Em todos os parâmetros colorimétricos (L^* , a^* e b^*) verificou-se um efeito estatisticamente muito significativo ($p < 0,0001$) do tempo de vácuo. O tempo de vácuo de 30 dias apresentou o valor mais elevado de L^* (43,96), ao passo que o tempo de vácuo de 8 dias apresentou os valores mais elevados de a^* (28,30) e b^* (15,03). Os valores de L^* são mais elevados nas amostras que foram submetidas a um período de vácuo mais reduzido ou mais longo, sendo que as amostras submetidas a períodos intermédios apresentam primeiro uma redução gradual dos 8 aos 20 dias e depois um aumento gradual dos 20 aos 30 dias. Ao contrário do verificado nos valores de L^* , os valores das amostras com 30 dias de tempo de vácuo foram os mais reduzidos tanto para a^* (23,24) como para b^* (13,04). Nos tempos de vácuo

intermédios tanto os valores de a^* como de b^* não apresentaram uma evolução linear, tendo, no entanto, evoluído de forma equivalente entre um ao outro.

Tabela 12 – Efeito do tempo de vácuo na luminosidade (L^*), intensidade de vermelho (a^*) e intensidade de amarelo (b^*) das vazias (músculo *longissimus lumborum*)

Tempo de vácuo (dias)	L^*	p	a^*	p	b^*	p
8	43,03	<,0001	28,30	<,0001	15,03	<,0001
12	42,45	<,0001	25,63	<,0001	13,57	<,0001
16	41,76	<,0001	26,69	<,0001	14,03	<,0001
20	41,05	<,0001	26,72	<,0001	14,22	<,0001
24	42,47	<,0001	23,51	<,0001	13,42	<,0001
28	43,96	<,0001	24,73	<,0001	13,70	<,0001
30	43,96	<,0001	23,24	<,0001	13,04	<,0001

Por outro lado, a análise do efeito do tempo de prateleira, independentemente do período de vácuo a que as amostras foram submetidas (tempo de vácuo foi utilizado como uma medida de tipo único) (Tabela 13) revelou um efeito estatisticamente muito significativo ($p<0,0001$) sobre todos os parâmetros colorimétricos (L^* , a^* e b^*). O tempo de prateleira de 12 dias foi aquele que apresentou um valor de L^* superior (43,17), ao passo que o tempo de prateleira de 0 dias apresentou os valores mais elevados de a^* e b^* (29,93 e 15,67, respectivamente). Os valores de L^* demonstraram uma evolução análoga à apresentada na Tabela 12, tendo ocorrido uma redução gradual da luminosidade dos 0 aos 6 dias de tempo de prateleira, dando-se a partir daí uma inversão e um aumento gradual dos 6 aos 12 dias de tempo de prateleira. Os valores das coordenadas colorimétricas a^* e b^* evoluíram uma vez mais em uníssono, tendo apresentado uma redução gradual e contínua dos mesmos entre os 0 e os 12 dias de tempo de prateleira.

Tabela 13 – Efeito do tempo de prateleira sobre a luminosidade (L*), intensidade de vermelho (a*) e intensidade de amarelo (b*) das vazias (músculo *longissimus lumborum*)

Tempo de Prateleira (dias)	L*	p	a*	p	b*	p
0	42,53	<,0001	29,93	<,0001	15,67	<,0001
3	42,50	<,0001	28,59	<,0001	14,72	<,0001
6	42,19	<,0001	26,36	<,0001	13,72	<,0001
9	42,95	<,0001	24,06	<,0001	12,99	<,0001
12	43,17	<,0001	18,79	<,0001	12,18	<,0001

A Tabela 14 expõe os resultados da análise colorimétrica relativamente aos valores de L* medidos a cada um dos tempos analisados, tendo em conta o efeito combinado do tempo de vácuo com o tempo de prateleira. Todos os tempos analisados apresentaram um efeito combinado do tempo de vácuo com o tempo de prateleira estatisticamente muito significativo ($p < 0,0001$) sobre a coordenada L* das amostras LL. As amostras LL submetidas a 20 dias de tempo de vácuo e 12 dias de tempo de prateleira apresentaram o valor mais baixo de L* (40,54), ao passo que o maior valor de L* (45,52) foi apresentado pelas amostras LL submetidas a 30 dias de tempo de vácuo e 12 dias de tempo de prateleira. Com exceção das amostras sujeitas a 12 e a 20 dias de tempo de vácuo, todas as restantes obtiveram valores mais elevados de L* aos 12 do que aos 6 dias de tempo de prateleira.

Tabela 14 – Efeito combinado do tempo de vácuo e prateleira sobre a luminosidade (L*) das vazias (músculo *longissimus lumborum*), ($p < ,0001$)

Tempo de vácuo (dias)	Tempo de prateleira (dias)				
	0	3	6	9	12
8	42,57	42,21	43,37	42,57	44,43
12	42,35	43,40	42,06	43,48	40,98
16	41,84	41,42	41,02	41,75	42,79
20	41,84	40,65	40,73	41,49	40,54
24	42,31	42,19	41,75	42,25	43,83
28	43,57	44,20	43,13	44,77	44,12
30	43,26	43,45	43,29	44,31	45,52

Os resultados apresentados na Tabela 15 representam as medições colorimétricas relativas à coordenada a^* tomadas a cada um dos tempos analisados, tendo em conta o efeito combinado do tempo de vácuo com o tempo de prateleira. Pela análise da tabela é possível verificar um efeito combinado do tempo de vácuo com o tempo de prateleira estatisticamente muito significativo ($p < 0,0001$) sobre o a^* das amostras LL. O maior valor de a^* (31,98) verificou-se nas amostras LL submetidas a 16 dias de tempo de vácuo e 0 dias de tempo de prateleira, ao passo que o menor valor de a^* (12,61) ocorreu nas amostras LL submetidas a 24 dias de tempo de vácuo e 12 dias de tempo de prateleira. Com exceção do grupo de amostras sujeitas a 8 dias de tempo de vácuo, verificou-se uma redução constante e gradual dos valores de a^* dos 0 aos 12 dias de tempo de prateleira. Os valores que foram medidos no final do tempo de prateleira foram consideravelmente mais baixos para as amostras com 20 ou mais dias de tempo de vácuo.

Tabela 15 – Efeito combinado do tempo de vácuo e prateleira sobre a intensidade de vermelho (a^*) das vazias (músculo *longissimus lumborum*), ($p < 0,0001$)

Tempo de vácuo (dias)	Tempo de prateleira (dias)				
	0	3	6	9	12
8	28,77	29,55	29,22	26,41	27,54
12	29,12	27,62	25,77	24,67	20,99
16	31,98	29,06	25,97	25,79	20,66
20	31,88	30,38	28,31	24,99	18,05
24	30,43	28,85	24,64	21,04	12,61
28	28,70	28,06	25,91	23,73	17,27
30	28,65	26,61	24,69	21,82	14,44

A análise do efeito combinado do tempo de vácuo com o tempo de prateleira sobre os valores da coordenada b^* (Tabela 16) revelou um efeito estatisticamente muito significativo ($p < 0,0001$), tendo-se verificado o valor mais elevado desta coordenada aos 16 dias de vácuo com 0 dias de tempo de prateleira (16,93) e o menor valor aos 30 dias de vácuo com 12 dias de tempo de prateleira (11,31). Em todos os grupos de amostras LL analisadas, os valores de b^* obtidos aos 0 dias de tempo de prateleira foram sempre superiores quando comparados com os valores obtidos aos 12 dias de tempo de prateleira.

Tabela 16 – Efeito combinado do tempo de vácuo e prateleira sobre a intensidade de amarelo (b*) das vazias (músculo *longissimus lumborum*), ($p < ,0001$)

Tempo de vácuo (dias)	Tempo de prateleira (dias)				
	0	3	6	9	12
8	15,06	15,82	15,66	13,91	14,69
12	15,49	14,20	13,50	13,03	11,64
16	16,93	14,97	13,33	13,58	11,33
20	16,27	15,38	14,25	13,17	12,04
24	15,93	14,72	12,60	11,79	12,08
28	15,10	14,45	13,63	13,12	12,19
30	14,90	13,54	13,10	12,36	11,31

As Figura 5 e Figura 6 permitem comparar dois bifes da vazia (músculo *longissimus lumborum*) em diferentes estados oxidativos. Na Figura 5 pode apreciar-se um bife com uma forte coloração vermelha, no dia da abertura do vácuo (0 dias de prateleira), coloração preferida pelo consumidor no acto de compra. A Figura 6 apresenta um bife com acentuadas manchas de descoloração, representativas dos processos de oxidação e que seria provavelmente rejeitado por parte do consumidor.

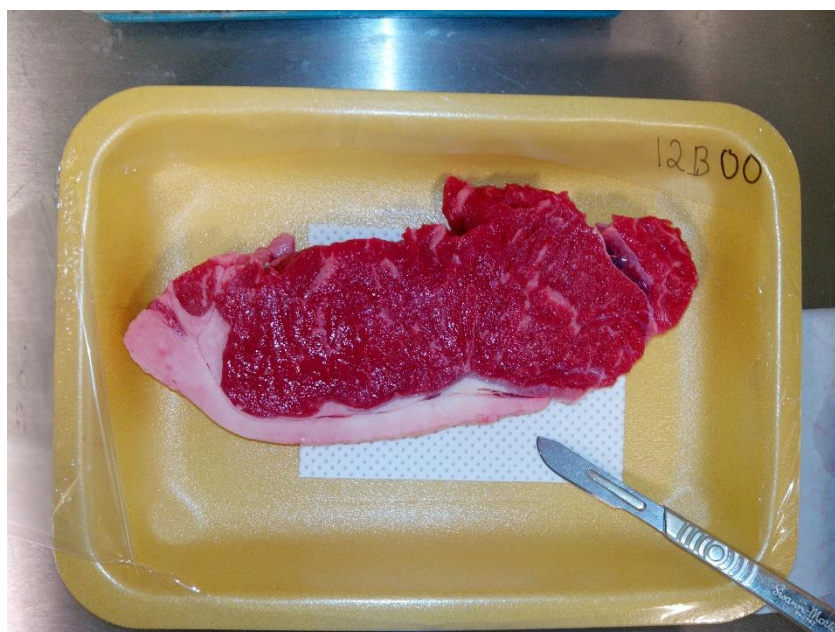


Figura 5 – Bife da vazia (*longissimus lumborum*) com 12 dias de tempo de vácuo e 0 dias de tempo de prateleira, apresentando forte coloração vermelha (fotografia original)



Figura 6 – Bife da vazia (*longissimus lumborum*) com 30 dias de tempo de vácuo e 12 dias de tempo de prateleira, apresentando acentuadas manchas de descoloração (fotografia original)

5 Discussão

As amostras disponíveis para este estudo eram provenientes de apenas 14 vazias, ou seja, apenas peças de carne provenientes de dois animais diferentes foram analisadas para cada período de vácuo e subsequente período de prateleira. A variabilidade individual acaba por ter influência nos resultados obtidos e não é possível minimizá-la da mesma forma que seria possível se o n da amostra fosse de uma grandeza superior. Para além disto, não foram efectuadas medições dos parâmetros em estudo antes de se iniciar o período de vácuo, o que teria permitido avaliar o real impacto deste fator nos valores obtidos e averiguar uma possível correlação com a variabilidade obtida no dia da abertura do vácuo (dia zero de prateleira) neste estudo.

Os bifes da vazio analisados foram seleccionados casualmente, sem registo sobre de que zona da vazio era originária a amostra em questão, levantando-se a possibilidade de as concentrações de antioxidantes não serem uniformes em toda a peça e esse facto poder influenciar os resultados obtidos. Uma vez mais, também este fator poderia ser minimizado, ou eventualmente até analisado, com a possibilidade de aceder a uma amostra maior. A questão da origem das peças de vazio foi acomodada seleccionando apenas vazias do mesmo lote, no entanto é impossível determinar o estado nutritivo dos animais *ante mortem*, o tipo de alimentação fornecida, garantir que era igual para todos, alguma afecção ou patologia de que pudessem padecer, tempo de transporte, entre outros factores que podem influenciar o estado oxidativo da carne. Um erro por parte do operador não pode ser descartado, mas de forma a minimizar esta possibilidade todas as amostras foram recolhidas pelo mesmo operador realizando a mesma rotina definida no protocolo.

5.1 α -tocoferol

Nota-se uma elevada variabilidade no teor de α -tocoferol e também que em nenhum grupo os teores médios ultrapassaram os 3,1 $\mu\text{g/g}$ de carne. Quando se analisa a Tabela 5, verifica-se, no entanto, que apenas três bifes analisados apresentam valores superiores a 3,1 $\mu\text{g/g}$ de carne (8 dias de vácuo/0 e 12 dias de prateleira e 16 dias de vácuo/0 dias de prateleira). Este é um dado de relevo, pois é considerado que a carne de bovino deve apresentar um teor mínimo de α -tocoferol de 3 a 3,5 $\mu\text{g/g}$ de carne como forma de prevenção da oxidação lipídica e alteração da cor da carne (Nassu et al. 2011). Existe uma clara variabilidade na amostra, pelo que a variação dos valores medidos dificilmente poderá ser explicada pelo efeito individual do tempo de vácuo. De acordo com a Tabela 5, aos zero

dias de prateleira (dia em que termina o período de vácuo), as amostras foram apresentando um teor cada vez mais reduzido de α -tocoferol com o aumento do período de vácuo (com a excepção dos 16 dias de vácuo), o que parece indicar que ocorre uma depleção do α -tocoferol durante o embalamento a vácuo, sinal de que ocorrem fenómenos de oxidação durante esta fase. Como referido anteriormente, infelizmente não foram medidos os níveis de α -tocoferol antes do embalamento a vácuo, o que teria sido de elevado valor para este estudo. Ainda na análise desta tabela, verifica-se que as medições obtidas aos 3, 6, 9 e 12 dias de tempo de prateleira para os vários tempos de vácuo apresentam uma variabilidade bastante elevada, o que, mais uma vez, poderá ser reflexo da dimensão reduzida da amostra.

De acordo com Miller e Huang (1993), a deposição de α -tocoferol na carne de galinha depende do perfil lipídico da carne e, em última análise, da dieta do animal. A suplementação com α -tocoferol resulta em produtos alimentares com um maior valor nutritivo e qualitativo. No entanto, sabe-se que a suplementação de alimento com α -tocoferol leva a diferentes níveis de vitamina E nos tecidos analisados (O'Neill et al. 1998; Ruiz et al. 1999). Os estudos referidos anteriormente, embora tenham sido realizados em carne de galinha, abrem a possibilidade de se fazer uma extrapolação para a carne de bovino, assumindo que os mesmos factores terão um impacto equivalente. Mais uma vez, a dieta do animal é um importante fator a ter em conta com influência na variabilidade dos teores medidos, que se juntam à hipótese apontada por Ball (1996) de parte desta variabilidade poder ser atribuída aos métodos analíticos utilizados para determinar as concentrações de α -tocoferol na dieta dos animais e nos produtos alimentares.

A maioria dos estudos limitam-se a investigar/estudar as diferentes fontes de gordura ou as diferenças quantitativas na gordura da dieta e não têm em consideração o estado de poli-insaturação da gordura na dieta do animal e como esta poderá afectar a deposição de α -tocoferol nos tecidos animais (Cortinas et al. 2006). À partida, quanto maior o tempo de prateleira, maior a susceptibilidade da carne à oxidação. Como já foi referido anteriormente, as condições pró-oxidativas da amostra podem aumentar a taxa de oxidação lipídica que, por sua vez, é neutralizada pelo α -tocoferol presente na amostra, que é então consumido, resultando numa diminuição da concentração desta vitamina (Cortinas et al. 2006). Seria expectável verificar uma diminuição gradual nos valores de vitamina E, ao longo do tempo de prateleira para cada uma das vazias. Os resultados obtidos na Tabela 4 apresentam a média de valores a cada dia de prateleira, sendo possível verificar que no global existe uma redução dos níveis de α -tocoferol, o que vai ao encontro do descrito nos estudos referidos acima (Ball 1996; O'Neill et al. 1998; Ruiz et al. 1999; Cortinas et al. 2006). No entanto, ao analisar a Tabela 5 nota-se uma grande variabilidade de resultados, que provavelmente

decorrerá do facto de apenas terem sido analisados bifes de vazias provenientes de dois animais em cada um dos tempos estudados.

5.2 β -caroteno

A análise da evolução do teor médio de β -caroteno durante o período de embalamento em cuvete (Tabela 7), permite verificar a existência de uma redução gradual em todos os intervalos analisados. Quando são analisados em conjunto os efeitos do tempo de vácuo e do tempo de prateleira sobre cada grupo de amostras, é novamente possível verificar uma grande variabilidade presente na concentração inicial de β -caroteno, sendo perceptível uma tendência para a sua redução durante o período de prateleira, o que poderá ser devido às acções de oxidação que ocorrem durante este período. Sendo verdade que os valores médios são decrescentes, individualmente analisados é visível que essa tendência não foi sempre verificável para todos os períodos de vácuo. As concentrações iniciais de β -caroteno mostraram-se mais uma vez muito variáveis, sendo inclusivamente mais elevados os valores medidos aos zero dias de prateleira nas amostras que estiveram 30 dias em vácuo do que as que estiveram apenas 12 dias.

Poder-se-á extrapolar que o β -caroteno terá uma função na estabilidade da oxidação lipídica da carne semelhante à do α -tocoferol, devido à sinergia com que estes compostos actuam contra a oxidação (Yeum et al. 2009), e como tal, seria expectável a sua redução gradual ao longo do tempo. A expectativa inicial de se observar uma redução contínua do teor de β -caroteno durante o tempo de prateleira, independentemente do valor inicial, não se verificou de forma absoluta numa avaliação individual (Tabela 8) mas está presente numa avaliação global (Tabela 7). As limitações do estudo apontadas no capítulo anterior (α -tocoferol) como possíveis razões para a elevada variabilidade obtida serão também aplicáveis neste caso.

5.3 MDA

A análise dos teores de MDA, permite verificar que a grande maioria dos valores obtidos neste estudo se encontram abaixo de 2 mg MDA/kg, que é definido como o valor mínimo para o desenvolvimento de odores e rancidez na carne, representando também o limite de aceitabilidade por parte do consumidor (Greene and Cumuze 1982). A utilização de

um painel sensorial poderia aqui ter sido uma mais-valia na exploração deste fator. As únicas excepções ocorreram em dois tempos: 12 dias de prateleira/24 dias de vácuo e 12 dias de prateleira/28 dias de vácuo, em que os valores de MDA foram de respectivamente, 2.872 mg/kg e 2.225 mg/kg. No entanto, aos 12 dias de prateleira e 30 dias de vácuo, os valores de MDA são novamente mais baixos (1.528 mg/kg), o que poderá ser explicado por vários factores que serão abordados mais adiante neste capítulo.

De acordo com os dados apresentados na Tabela 9, as amostras que foram expostas a um reduzido período de vácuo, e bem assim a um menor intervalo entre o momento de abate e o embalamento em cuvette, apresentam valores médios mais reduzidos de MDA, indicativo de uma menor taxa de oxidação.

A análise da evolução do teor de MDA ao longo do tempo de prateleira (Tabela 10) permite observar que as amostras apresentaram valores tendencialmente crescentes, de acordo com o que seria de esperar considerando uma contínua oxidação ao longo do tempo. É, no entanto, visível que as amostras submetidas a 6 dias de prateleira apresentaram uma média superior à das amostras submetidas a 9 dias de prateleira.

Os resultados apresentados na Tabela 11 não apresentam relevância estatística ($p>,05$) aos 0 dias de prateleira e aos 8 dias de vácuo, no entanto é possível verificar que as amostras tendem a apresentar valores mais elevados de MDA com o decorrer do período em análise.

Os resultados do teste de TBARS (Tabela 9, Tabela 10 e Tabela 11) mostram mais uma vez que a variabilidade individual das amostras está presente pois, embora seja possível observar teores de MDA mais reduzidos nas amostras submetidas a um menor período de vácuo quando comparadas às amostras próximas do período máximo de vácuo, a evolução dos valores intermédios não é contínua como poderia ser expectável se a amostra fosse uniforme e a evolução da oxidação produzisse valores de MDA continuamente mais elevados. No entanto, sabe-se que o MDA reage com uma grande variedade de compostos e que pode formar dímeros ou trímeros de MDA, o que reduz a quantidade de MDA disponível para reagir com o TBA o que, por consequência, reduz os valores do TBARS (Gutteridge 1975; Esterbauer et al. 1991; Aubourg 1993), podendo afectar os resultados do estudo.

Relativamente ao tempo de prateleira foi verificada uma tendência estatisticamente significativa de aumento do teor de MDA ao longo deste período. Uma vez mais, é visível alguma variabilidade nos resultados obtidos, não ocorrendo um aumento linear em todos os intervalos avaliados nas diferentes amostras. Assim sendo, os resultados estão de acordo com o expectável relativamente à presença de subprodutos de reacções de oxidação que ocorrem tanto durante o período de embalamento a vácuo como no posterior tempo de prateleira. No entanto, como já foi referido anteriormente, vários autores (King et al. 1995;

Wen et al. 1996; Grau et al. 2001) verificaram uma diminuição no valor de TBARS num estudo feito com carne de galinha após refrigeração prolongada. Cortinas et al (2005) sugere que esta redução em função do tempo de armazenamento esteja provavelmente associada ao aumento da concentração de produtos altamente polares, resultantes da polimerização de produtos secundários da oxidação, que reagem então com o MDA, que se torna menos disponível para reagir com o TBA.

De um modo geral, é difícil fazer comparações entre valores de TBARS obtidos em diferentes estudos, porque as diferenças na magnitude da variação destes valores podem ser atribuídos a diferentes factores tais como o método analítico utilizado, condições de armazenamento (tempo, temperatura e método de embalagem), conteúdo de α -tocoferol, perfil de ácidos gordos da carne (Cortinas et al. 2005) e outras limitações, como a espécie do animal, idade, dieta, peça utilizada no estudo, entre outros. Cortinas et al (2005) conclui que, por este motivo e com base nos estudos feitos, a avaliação dos valores de TBARS pode não ser um bom método para determinar a estabilidade oxidativa da carne durante armazenamento prolongado. Ainda neste registo, alguns autores que verificaram uma diminuição dos valores de TBARS não encontraram uma redução nos compostos voláteis totais (Ajuyah et al. 1993) nem nos hidroperóxidos lipídicos (Grau et al. 2001), o que corrobora a teoria de que este método possa não ser o mais preciso na avaliação da oxidação lipídica. Da mesma forma poder-se-á extrapolar que alguns valores bizarros de MDA obtidos no estudo do presente trabalho possam ter sido influenciados por todos os factores já acima referidos e que, na opinião do autor, devam ser utilizados como um indicador geral da tendência da oxidação lipídica da carne (e consequentemente da sua deterioração ao longo do tempo) e não como valores que reflectem com exactidão todos os processos de oxidação durante as diferentes fases deste estudo. Para além disto, um estudo de Djenane et al. (2003) em carne de bovino refere que ocorre uma maior oxidação lipídica em amostras expostas a luz com radiação ultra-violeta (UV) quando comparadas com amostras mantidas no escuro. Este fator não foi tido em conta durante o armazenamento, sendo que efetivamente algumas amostras tiveram uma maior exposição à luz ambiente da câmara de refrigeração (lâmpadas fluorescentes) do que outras. Visto que a posição de armazenamento não foi registada no momento da selecção das amostras, é possível, na opinião do autor, que a exposição à radiação UV ajude a explicar alguma da variabilidade inesperada nos resultados obtidos.

5.4 Cor

O desenvolvimento de metamioglobina na superfície da carne, responsável por valores mais baixos de a^* e b^* e pelo surgimento de manchas acastanhadas indesejáveis (Figura 6), é potenciado pela exposição a radiação UV (Djenane et al. 2003). Como referido anteriormente, este fator não foi acautelado durante este estudo e poderá ser uma justificação para algum valor menos expectável obtido nos resultados. Seria interessante avaliar amostras que garantidamente tivessem uma exposição homogénea à luz por forma a minimizar a aleatoriedade do seu impacto.

Uma possível explicação para os valores mais elevados de L^* ao início e ao fim dos períodos analisados reside na hidratação superficial ser maior num momento próximo ao fatiamento, ocorrer alguma evaporação/secagem num período intermédio e, mais tarde, por via do efeito da exsudação, ocorrer libertação de exsudado novamente à superfície que voltará a aumentar a taxa de reflexão da luz. Avaliar o grau de produção de exsudado tanto durante o tempo de vácuo como durante o tempo de prateleira e a possível relação com o valor de L^* poderia ajudar a trazer clareza a esta situação.

Num estudo conduzido por Gatellier et al. (2005), os valores de L^* foram estáveis durante o período de armazenamento, sendo que a maioria da variação se deveu a diferenças no sexo e na dieta dos animais, informação à qual o estudo da presente tese não teve acesso. Para além destes factores, outros de natureza biológica e tecnológica, tais como variações sazonais e climáticas, que poderão afectar as concentrações de antioxidantes na pastagem ou granulado dos animais (Gatellier et al. 2005), podem também influenciar a dieta e, potencialmente as características da carne, entre as quais a cor. A ocorrência relativamente comum de resultados contraditórios em estudos de qualidade da carne pode ser atribuída à elevadíssima variação das amostras obtidas pelos diferentes autores e, muitas vezes, pelo desconhecimento total de alguns desses factores aquando da realização do estudo – como no caso do presente estudo –, o que limita de alguma forma a análise dos resultados.

Os valores de a^* apresentaram uma tendência de redução quando avaliado o impacto do tempo de prateleira. No presente estudo, os níveis de a^* apresentaram uma redução durante o período de embalamento com a exposição à atmosfera modificada e o efeito do período de vácuo foi sentido principalmente no final do tempo de prateleira em que os valores de a^* aos 12 dias de prateleira são drasticamente mais reduzidos nas amostras mais envelhecidas (>20 dias de vácuo). Com o passar do tempo, a carne vai perdendo intensidade de vermelho, que, como já foi mencionado, é o principal fator para a decisão de não aquisição da mesma no momento da selecção do produto por parte do consumidor. Estes resultados estão de acordo com os obtidos por Gatellier et al (2005), que verificaram

que, independentemente da dieta, sexo e idade dos animais, os valores de a^* diminuíram significativamente ao longo do período de armazenamento, sobretudo quando a carne foi exposta ao ar.

Já os resultados relativos a b^* demonstram uma redução da intensidade de amarelo contínua durante o tempo de prateleira e, embora apresentem também uma tendência de redução durante o período de vácuo, esta não é tão acentuada como durante o período de prateleira; ou seja, o tempo passado em vácuo não parece ter um efeito tão forte sobre os valores de b^* como tem sobre os valores de a^* , embora esteja também presente. No estudo de Gatellier et al (2005), ambos os valores (a^* e b^*) sofreram efeitos muito semelhantes resultantes da reoxigenação. Estes autores verificaram que a dieta afectou significativamente os valores de b^* nas amostras analisadas, o que terá sido maioritariamente devido à diferença de concentração de β -carotenos entre dietas provenientes de pastagem ou de concentrados. Infelizmente, no presente estudo, não foi possível averiguar a influência deste fator nos valores de b^* , uma vez que se desconhece a dieta dos animais que deram origem às amostras analisadas.

Verificou-se que os bifes submetidos a um menor período de vácuo apresentaram valores de a^* e b^* mais elevados ao longo do tempo de prateleira, assim como menos desenvolvimento de manchas de descoloração à superfície, como as representadas na Figura 6. Isto é uma consideração a ter em conta na gestão dos stocks em loja, pois a probabilidade de rejeição por parte do consumidor poderá ocorrer mais cedo nas amostras que foram submetidas a um maior tempo de vácuo. Uma estratégia que possa incluir uma indicação de menor tempo útil de prateleira ou de maior prioridade na venda ao consumidor dessas peças poderá ser de extremo valor para a indústria alimentar.

Estes resultados foram bastante satisfatórios pois, como referido anteriormente, a cor é um dos factores, senão mesmo o fator, mais preponderante na selecção ou rejeição de uma peça de carne por parte do consumidor. O surgimento de manchas superficiais mais escuras indesejadas pelo consumidor – principal causa de retorno de produto nas grandes superfícies comerciais – é também mais comum no final do tempo de prateleira das amostras mais envelhecidas. Como sugestão, seria interessante tentar desenvolver um modelo matemático de previsão que levasse à redução do surgimento destas manchas fazendo uma gestão do produto em loja que acomodasse peças com um determinado tempo de armazenamento a vácuo que seriam posicionadas de modo a serem vendidas primeiro do que outras que tivessem um menor período de vácuo que pudesse garantir uma maior longevidade sem o surgimento de manchas de descoloração, mesmo que com uma data de fatiamento mais antiga. Seria também interessante realizar um estudo utilizando uma amostra com alimentação controlada e níveis de antioxidantes homogêneos à partida, de forma a determinar a possibilidade de associar os valores da análise colorimétrica ou a sua

evolução ao teor de antioxidantes presente na peça, visto que esta análise é muito mais fácil, económica e imediata.

A prática (já habitual em empresas do ramo da indústria alimentar) de realização de estudos que busquem a optimização das condições de armazenamento da carne, nomeadamente o tipo de embalagem, atmosfera, películas, iluminação, etc., de forma a minimizar as perdas por rejeição da parte do consumidor, é algo que traz grandes benefícios e deve sempre ser estimulado.

6 Conclusão

Foi evidente ao longo da realização deste estudo que a não uniformidade da amostra e o desconhecimento de factores com grande influência no estado da carne, como o sexo, o historial clínico do animal, o estado nutritivo, o tipo de dieta, o tipo de produção, o transporte pré-abate, etc., reduziram a capacidade de retirar conclusões precisas relativamente aos parâmetros medidos. Para além disto, devido à reduzida dimensão da amostra (apenas dois LL por cada período de vácuo que correspondem a dois LL por cada tempo de prateleira), este estudo fica altamente exposto à variabilidade individual das amostras, e devido ao desconhecimento dos factores acima mencionados, fica com pouca margem de manobra para conseguir contrabalançar o seu efeito. Num futuro estudo semelhante, seria benéfico procurar obter vazias (LL) provenientes de um grupo homogéneo de animais, idealmente com histórico nutricional e médico conhecido (numa realidade científica ideal, animais que sejam criados em condições controladas, com o objectivo de reduzir a influência das variáveis externas).

A execução deste estudo teria beneficiado da possibilidade de aceder às peças de vaca previamente ao seu embalamento a vácuo, de forma a ser possível conhecer o ponto de partida e a evolução dos diferentes parâmetros analisados ao longo do tempo de vácuo. Isto permitiria uma avaliação mais completa do panorama e talvez até uma confirmação das razões para a variabilidade encontrada, pois seria possível saber se os níveis medidos apresentariam grande variabilidade imediatamente após o abate.

A análise colorimétrica foi a que apresentou um resultado mais satisfatório, demonstrando uma evolução bastante regular e até previsível das respectivas coordenadas durante o tempo de prateleira. A qualidade dos resultados obtidos permite aferir que a evolução da cor talvez tenha sido o parâmetro menos afectado pelas limitações deste estudo, embora não seja possível afirmar se o grau de degradação da mesma e a velocidade a que esta ocorre é influenciada apenas pelo tempo de exposição à atmosfera de embalamento ou também pelos factores limitantes deste estudo. Ficou patente que as amostras submetidas a um menor período de vácuo foram as que apresentaram uma menor alteração da cor superficial da carne, o que será um reflexo de uma maior estabilidade oxidativa das mesmas.

Seria interessante pesquisar, em estudos futuros, a correlação entre coordenadas colorimétricas e os níveis de antioxidantes na carne. A realização de mais estudos colorimétricos da carne, não só a nível científico, mas também a nível da indústria alimentar, poderá vir a ter grande importância na gestão do stock e na redução dos desperdícios alimentares das grandes superfícies, bem como do respectivo impacto financeiro e ambiental.

7 Bibliografia

Airado-Rodríguez D, Intawiwat N, Skaret J, Wold J. 2011. Effect of Naturally Occurring Tetrapyrroles on Photooxidation in Cow's Milk. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 59:3905-3914.

Ajuyah A, Fenton T, Hardin R, Sim J. 1993. Measuring Lipid Oxidation Volatiles in Meats. *Journal of Food Science* 58:270-273.

Asghar A, Bhatti A. 1988. Endogenous Proteolytic Enzymes in Skeletal Muscle: Their Significance in Muscle Physiology and During Postmortem Aging Events in Carcasses. *Advances in Food Research*:343-451.

Aubourg S. 1993. Interaction of malondialdehyde with biological molecules - new trends about reactivity and significance. *International Journal of Food Science & Technology* 28:323-335.

Ball, G.F.M., 1996: Determination of fat-soluble vitamins in foods by high performance liquid chromatography. Pages 601-647 in *Handbook of Food Analysis*. L. M. L. Nollet, ed. Marcel Decker Inc., New York.

Belitz H, Grosch W, Schieberle P. 2004. *Meat. Food Chemistry*:566-618.

Bhatnagar AS, Kulshrestha R. 2017. Natural Antioxidants: Occurrence and Their Role in Food Preservation. In: Banerjee R, Verma AK, Siddiqui MW, editors. *Natural Antioxidants: Applications in Foods of Animal Origin*. Oakville, Canada: Apple Academic Press. p. 39-94.

Becker T. 2000. Consumer perception of fresh meat quality: a framework for analysis. *British Food Journal*. 102(3):158-176.

Bhutta ZA. 2013. Protein digestion and bioavailability. In: Allen LH, Prentice A., Caballero B, editors. *Encyclopedia of Human Nutrition*. 3rd. ed. (vol. 4). Oxford, UK: Academic Press. p. 116-122

Carpenter CE, Cornforth DP, Whittier D. 2001. Consumer preferences for beef color and packaging did not affect eating satisfaction. *Meat Science*. 57(4):359-363.

Chaijan M. 2008. Lipid and myoglobin oxidations in muscle foods. *Songklanakarin Journal of Science & Technology*. 30(1).

Cheng K, Niu Y, Zheng X, Zhang H, Chen Y, Zhang M, Huang X, Zhang L, Zhou Y, Wang T. 2016. A Comparison of Natural (D- α -tocopherol) and Synthetic (DL- α -tocopherol Acetate) Vitamin E Supplementation on the Growth Performance, Meat Quality and Oxidative Status of Broilers. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences* 29:681-688.

Cortinas L, Barroeta A, Villaverde C, Galobart J, Guardiola F, Baucells M. 2005. Influence of the dietary polyunsaturation level on chicken meat quality: lipid oxidation. *Poultry Science* 84:48-55.

Cortinas L, Baucells M, Villaverde C, Guardiola F, Jensen S, Barroeta A. 2006. Influence of dietary polyunsaturation level on α -tocopherol content in chicken meat. *Arch.Geflügelk.* 70 (3):98-105.

Cross A, Harnly J, Ferrucci L, Risch A, Mayne S, Sinha R. 2012. Developing a Heme Iron Database for Meats According to Meat Type, Cooking Method and Doneness Level. *Food and Nutrition Sciences* 03:905-913.

Daley C, Abbott A., Doyle P, Nader G, Larson S. 2010. A review of fatty acid profiles and antioxidant content in grass-fed and grain-fed beef. *Nutrition journal*. 9(1):10.

Decker EA, Livisay SA, Zhou. 2000. Mechanisms of endogenous skeletal muscle antioxidants: Chemical and physical aspects. In: Decker E, Faustman C, Lopez-Bote C, editors. *Antioxidants in muscle foods*. New York: Wiley. p. 25-60

De Smet S, Raes K, Demeyer D. 2004. Meat fatty acid composition as affected by fatness and genetic factors: a review. *Animal Research* 53:81-98.

Descalzo A, Insani E, Biolatto A, Sancho A, Garcia P, Pensel N, Josifovich J. 2005. Influence of pasture or grain-based diets supplemented with vitamin E on antioxidant/oxidative balance of Argentine beef. *Meat science*. 70(1):35-44.

Descalzo A, Sancho A. 2008. A review of natural antioxidants and their effects on oxidative status, odor and quality of fresh beef produced in Argentina. *Meat Science*. 79(3):423-436.

Djenane D, Sanchez-Escalante A, Beltran J, Roncalés P. 2003. Extension of the shelf life of beef steaks packaged in a modified atmosphere by treatment with rosemary and displayed under UV-free lighting. *Meat Science*. 64(4):417-426.

Dunne P, Monahan F, O'Mara F, Moloney A. 2009. Colour of bovine subcutaneous adipose tissue: A review of contributory factors, associations with carcass and meat quality and its potential utility in authentication of dietary history. *Meat science*. 81(1):28-45.

Ellis M. 1994. The methodology of shelf life determination. In: Singh RP, Man CMD, Jones AA, editors. *Shelf Life Evaluation of Foods*. USA: Springer. p. 27-39

Esterbauer H, Schaur R, Zollner H. 1991. Chemistry and biochemistry of 4-hydroxynonenal, malonaldehyde and related aldehydes. *Free Radical Biology and Medicine* 11:81-128.

Estévez M, Heinonen M. 2010. Effect of Phenolic Compounds on the Formation of α -Aminoadipic and γ -Glutamic Semialdehydes from Myofibrillar Proteins Oxidized by Copper, Iron, and Myoglobin. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 58:4448-4455.

FAOSTAT. 2019. FAOSTAT compare data tool. Acedido em Mar. 18, 2019, disponível em: <http://fenix.fao.org/faostat/beta/en/#compare>

Faustman C, Yin S, Tatiyaborworntham N, Naveena B. 2010. Oxidation and protection of red meat. In: Decker EA, Elias RJ, McClements DJ, editors. *Oxidation in Foods and Beverages and Antioxidant Applications: Management in different industry sectors*. Vol. 2. Elsevier. p. 3-49

Fernández J, Pérez-Álvarez J, Fernández-López J. 1997. Thiobarbituric acid test for monitoring lipid oxidation in meat. *Food Chemistry* 59:345-353.

[GPP] Gabinete de Planeamento, Políticas e Administração Geral. 2014. *Anuário agrícola: Informação de mercados*. Lisboa: MAM.

[GPP] Gabinete de Planeamento, Políticas e Administração Geral. 2017. Informação de mercados: Produtos animais. Lisboa: MAFDRM.

Gatellier P, Mercier Y, Juin H, Renerre M. 2005. Effect of finishing mode (pasture- or mixed-diet) on lipid composition, colour stability and lipid oxidation in meat from Charolais cattle. *Meat Science* 69:175-186.

Gerber N, Scheeder M, Wenk C. 2009. The influence of cooking and fat trimming on the actual nutrient intake from meat. *Meat science*. 81(1):148-154.

Giménez A, Ares F, Ares G. 2012. Sensory shelf-life estimation: A review of current methodological approaches. *Food research international*. 49(1):311-325.

Glitsch K. 2000. Consumer perceptions of fresh meat quality: cross-national comparison. *British Food Journal*. 102(3):177-194.

Grau A, Codony R, Grimpa S, Baucells M, Guardiola F. 2001. Cholesterol oxidation in frozen dark chicken meat: influence of dietary fat source, and α -tocopherol and ascorbic acid supplementation. *Meat Science* 57:197-208.

Greene B, Cumuze T. 1982. Relationship Between TBA Numbers and Inexperienced Panelists' Assessments of Oxidized Flavor in Cooked Beef. *Journal of Food Science* 47:52-54.

Grune T, Lietz G, Palou A, Ross A, Stahl W, Tang G, Thurnham D, Yin S, Biesalski H. 2010. β -carotene is an important vitamin a source for humans. *The Journal of nutrition*. 140(12):2268S-2285S.

Guillén-Sans R, Guzmán-Chozas M. 1998. The Thiobarbituric Acid (TBA) Reaction in Foods: A Review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 38:315-350.

Gutteridge J. 1975. The use of standards for malonyldialdehyde. *Analytical Biochemistry* 69:518-526.

Gutteridge J. 1981. Thiobarbituric acid-reactivity following iron-dependent free-radical damage to amino acids and carbohydrates. *FEBS Letters* 128:343-346.

Guyon C, Meynier A, de Lamballerie M. 2016. Protein and lipid oxidation in meat: A review with emphasis on high-pressure treatments. *Trends in Food Science & Technology* 50:131-143.

Herrera E, Barbas C. 2001. Vitamin E: action, metabolism and perspectives. *Journal of physiology and biochemistry*. 57(1):43-56.

Higgs J. 2000. The changing nature of red meat: 20 years of improving nutritional quality. *Trends in Food Science & Technology*. 11(3):85-95.

Hood D, Riordan E. 1973. Discolouration in pre-packaged beef: Measurement by reflectance spectrophotometry and shopper discrimination. *International Journal of Food Science & Technology*. 8(3):333-343.

Hyde K, Smith A, Smith M, Henningsson S. 2001. The challenge of waste minimisation in the food and drink industry: a demonstration project in East Anglia, UK. *Journal of Cleaner Production* 9(1):57-64.

[INE] Instituto Nacional de Estatística. 2019a. Consumo humano de carne (t) por tipo de carnes. Acedido em Mar. 15, 2019, disponível em: http://www.ine.pt/xportal/xmain?xpid=INE&xpgid=ine_indicadores&indOcorrCod=0000210&ontexto=bd&selTab=tab2

[INE] Instituto Nacional de Estatística. 2019b. Consumo humano de carne per capita (kg/ hab.) por tipo de carnes. Acedido em Mar. 15, 2019, disponível em: http://www.ine.pt/xportal/xmain?xpid=INE&xpgid=ine_indicadores&indOcorrCod=0000211&ontexto=bd&selTab=tab2

[INSA] Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge. 2019. Tabela da composição de alimentos. Acedido em Mar. 23, 2019, disponível em: <http://www.insa.pt/sites/INSA/Portugues/AreasCientificas/AlimentNutricao/AplicacoesOnline/TabelaAlimentos/Paginas/TabelaAlimentos.aspx>

Issanchou S. 1996. Consumer expectations and perceptions of meat and meat product quality. *Meat Science*. 43:5-19.

Jeremiah L, Carpenter Z, Smith G. 1972. Beef color as related to consumer acceptance and palatability. *Journal of Food Science*. 37(3):476-479.

Kanner J. 1994. Oxidative processes in meat and meat products: Quality implications. *Meat Science* 36:169-189.

Kanner J, Harel S, Granit R. 1992. Nitric oxide, an inhibitor of lipid oxidation by lipoxygenase, cyclooxygenase and hemoglobin. *Lipids* 27:46-49.

Kerry J, Buckley D, Morrissey P, O'Sullivan K, Lynch P. 1998. Endogenous and exogenous α -tocopherol supplementation: effects on lipid stability (TBARS) and warmed-over flavour (WOF) in porcine M. longissimus dorsi roasts held in aerobic and vacuum packs. *Food Research International*. 31(3):211-216.

Khan A. 2014. Effects of Processing and Packaging Modifications on the Quality and Shelf Life in Meats [dissertação de mestrado]. Utah: Utah State University.

Kim S, Min S, Shin H, Lee Y, Cho A, Kim S, Han J. 2013. Evaluation of the antioxidant activities and nutritional properties of ten edible plant extracts and their application to fresh ground beef. *Meat Science* 93:715-722.

King A, Uijttenboogaart T, Vries A. 1995. α -Tocopherol, β -Carotene and Ascorbic Acid as Antioxidants in Stored Poultry Muscle. *Journal of Food Science* 60:1009-1012.

Kristinsson H, Hultin H. 2004. Changes in Trout Hemoglobin Conformations and Solubility after Exposure to Acid and Alkali pH. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 52:3633-3643.

Liu F, Xu Q, Dai R, Ni Y. 2015. Effects of natural antioxidants on colour stability, lipid oxidation and metmyoglobin reducing activity in raw beef patties. *Acta Scientiarum Polonorum Technologia Alimentaria* 14:37-44.

Lorenzo J, Sineiro J, Amado I, Franco D. 2014. Influence of natural extracts on the shelf life of modified atmosphere-packaged pork patties. *Meat Science* 96:526-534.

Lund M, Heinonen M, Baron C, Estévez M. 2010. Protein oxidation in muscle foods: A review. *Molecular Nutrition & Food Research* 55:83-95.

- Mancini R, Hunt M. 2005. Current research in meat color. *Meat Science* 71:100-121.
- Mendes R, Cardoso C, Pestana C. 2009. Measurement of malondialdehyde in fish: A comparison study between HPLC methods and the traditional spectrophotometric test. *Food Chemistry* 112(4):1038-1045.
- Mercier Y, Gatellier P, Renerre M. 2004. Lipid and protein oxidation in vitro, and antioxidant potential in meat from Charolais cows finished on pasture or mixed diet. *Meat Science* 66:467-473.
- Messina M. 2010. Insights Gained from 20 Years of Soy Research, 2. *The Journal of nutrition* 140(12):2289S-2295S.
- Miller E, Huang Y. 1993. Improving the nutritional value of broiler meat through increased n-3 fatty acid and vitamin E content. In: *Proceedings of the 11th European Symposium on the Quality of Poultry Meat*. Tours, France. p. 404-411
- Monahan F, Crackel R, Gray J, Buckley D, Morrissey P. 1993. Catalysis of lipid oxidation in muscle model systems by haem and inorganic iron. *Meat Science* 34:95-106.
- Monteiro ACSMG. 2012. Relationship between Portuguese consumer preferences and textural properties, chemical composition and nutritional value of beef. [tese de doutoramento]. Lisboa: Faculdade de Medicina Veterinária – Universidade Técnica de Lisboa.
- Morrissey P, Buckley D, Sheehy P, Monahan F. 1994. Vitamin E and meat quality. *Proceedings of the Nutrition Society* 53:289-295.
- Morrissey P, Sheehy P, Galvin K, Kerry J, Buckley D. 1998. Lipid stability in meat and meat products. *Meat science* 49:73-86.
- Mottram D. 1998. Flavour formation in meat and meat products: a review. *Food Chemistry* 62:415-424.
- Nam K, Ahn D. 2003. Use of antioxidants to reduce lipid oxidation and off-odor volatiles of irradiated pork homogenates and patties. *Meat Science* 63:1-8.
- Nassu R, Dugan M, Juárez M, Basarab J, Baron V, Aalhus J. 2011. Effect of α -tocopherol tissue levels on beef quality. *Animal*. 5(12):2010-2018.
- Nicoli M. 2012. Shelf Life Assessment of Food. London: CRC Press; (Food Preservation Technology Series). p. 1-16.
- Nychas G, Skandamis P, Tassou C, Koutsoumanis K. 2008. Meat spoilage during distribution. *Meat Science* 78(1):77-89.
- O'Neill L, Galvin K, Morrissey P, Buckley D. 1998. Comparison of effects of dietary olive oil, tallow and vitamin E on the quality of broiler meat and meat products. *Br. Poult. Sci.* 39:365-371.
- Ono K, Berry B, Paroczay E. 1985. Contents and retention of nutrients in extra lean, lean and regular ground beef. *Journal of Food Science* 50(3):701-706.
- Papastergiadis A, Mubiru E, Van Langenhove H, De Meulenaer B. 2012. Malondialdehyde Measurement in Oxidized Foods: Evaluation of the Spectrophotometric

Thiobarbituric Acid Reactive Substances (TBARS) Test in Various Foods. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 60:9589-9594.

Papuc C, Goran G, Predescu C, Nicorescu V. 2017. Mechanisms of Oxidative Processes in Meat and Toxicity Induced by Postprandial Degradation Products: A Review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* 16:96-123.

Pearson A, Love J, Shorland F. 1977. "Warmed-Over" Flavor in Meat, Poultry, and Fish. *Advances in Food Research* Volume 23:1-74.

Pereira P, Vicente A. 2013. Meat nutritional composition and nutritive role in the human diet. *Meat Science* 93(3):586-592.

Prates J, Quaresma M, Bessa R, Fontes C, Alfaia C. 2006. Simultaneous HPLC quantification of total cholesterol, tocopherols and β -carotene in Barrosã-PDO veal. *Food Chemistry* 94:469-477.

Realini C, Duckett S, Windham W. 2004. Effect of vitamin C addition to ground beef from grass-fed or grain-fed sources on color and lipid stability, and prediction of fatty acid composition by near-infrared reflectance analysis. *Meat science* 68(1):35-43.

Reeder B, Wilson M. 2001. The effects of pH on the mechanism of hydrogen peroxide and lipid hydroperoxide consumption by myoglobin: a role for the protonated ferryl species. *Free Radical Biology and Medicine* 30:1311-1318.

Rietjens I, Boersma M, De Haan L, Spenkelink B, Awad H, Cnubben N, Koeman J. 2002. The pro-oxidant chemistry of the natural antioxidants vitamin C, vitamin E, carotenoids and flavonoids. *Environmental toxicology and pharmacology* 11(3-4):321-333.

Ripoll G, Joy M, Muñoz F. 2011. Use of dietary vitamin E and selenium (Se) to increase the shelf life of modified atmosphere packaged light lamb meat. *Meat science* 87(1):88-93.

Robbins K, Jensen J, Ryan K, Homco-Ryan C, McKeith F, Brewer M. 2003. Consumer attitudes towards beef and acceptability of enhanced beef. *Meat Science* 65(2):721-729.

Rowley D, Halliwell B. 1983. Formation of Hydroxyl Radicals from Hydrogen Peroxide and Iron Salts by Superoxide- and Ascorbate-Dependent Mechanisms: Relevance to the Pathology of Rheumatoid Disease. *Clinical Science* 64:649-653.

Ruiz J, Perez-Vendrell A, Esteve-Garcia E. 1999. Effect of β -carotene and vitamin E on peroxidative stability in leg meat of broilers fed different supplemental fats. *J. Agric. Food Chem.* 47:448-454.

Seljeskog E, Hervig T, Mansoor M. 2006. A novel HPLC method for the measurement of thiobarbituric acid reactive substances (TBARS): A comparison with a commercially available kit. *Clinical Biochemistry* 39(9):947-954.

Sepúlveda W, Maza M, Mantecón A. 2008. Factors that affect and motivate the purchase of quality-labelled beef in Spain. *Meat Science* 80(4):1282-1289.

Suman S, Joseph P. 2013. Myoglobin chemistry and meat color. *Annual review of food science and technology* 4:79-99.

Tang S, Kerry J, Sheehan D, Buckley D, Morrissey P. 2001. Antioxidative effect of added tea catechins on susceptibility of cooked red meat, poultry and fish patties to lipid oxidation. *Food Research International* 34:651-657.

Tokur B, Korkmaz K, Ayas D. 2006. Comparison of Two Thiobarbituric Acid (TBA) Method for Monitoring Lipid Oxidation in Fish. *Su Ürünleri Dergisi* 23:331-334.

Tsai M, Huang T. 2015. Thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) is a state biomarker of oxidative stress in bipolar patients in a manic phase. *Journal of Affective Disorders* 173:22-26.

Van Hecke T, Van Camp J, De Smet S. 2017. Oxidation During Digestion of Meat: Interactions with the Diet and *Helicobacter pylori* Gastritis, and Implications on Human Health. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* 16:214-233.

Van Wezemael L, Caputo V, Nayga Jr R, Chrysoschoydis G, Verbeke W. 2014. European consumer preferences for beef with nutrition and health claims: A multi-country investigation using discrete choice experiments. *Food Policy* 44:167-176.

Vieira C, Cabral L, De Paula A. 1999. Composição centesimal e conteúdo de aminoácidos, ácidos graxos e minerais de seis cultivares de soja destinadas à alimentação humana. *Pesquisa agropecuária brasileira* 34(7):1277-1283.

Viljanen K, Kylli P, Kivikari R, Heinonen M. 2004. Inhibition of Protein and Lipid Oxidation in Liposomes by Berry Phenolics. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 52:7419-7424.

Vuorela S, Salminen H, Mäkelä M, Kivikari R, Karonen M, Heinonen M. 2005. Effect of Plant Phenolics on Protein and Lipid Oxidation in Cooked Pork Meat Patties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 53:8492-8497.

Wang X, Quinn P. 2000. The location and function of vitamin E in membranes. *Molecular Membrane Biology* 17(3):143-156.

Wen Y, Killalea S, McGettigan P, Feely J. 1996. Lipid peroxidation and antioxidant vitamins C and E in hypertensive patients. *Irish Journal of Medical Science* 165:210-212.

Williams P. 2007. Nutritional composition of red meat. *Nutrition & Dietetics* 64(s4):S113-S119.

Wood J, Enser M, Fisher A, Nute G, Sheard P, Richardson R, Hughes S, Whittington F. 2008. Fat deposition, fatty acid composition and meat quality: A review. *Meat science* 78(4):343-358.

Xiong Y, Decker E. 1995. Alterations of muscle protein functionality by oxidative and antioxidative processes. *Journal of Muscle Foods* 6:139-160.

Yeum, K.-J., G. Beretta, N.I. Krinsky, R.M. Russell, and G. Aldini. 2009. Synergistic interactions of antioxidant nutrients in a biological model system. *Nutrition* 25:839-846

Zeb A, Ullah F. 2016. A simple spectrophotometric method for the determination of thiobarbituric acid reactive substances in fried fast foods. *Journal of analytical methods in chemistry*. 2016:1-5